

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví B5345

Eliška Raunerová

Studijní obor: Zdravotní laborant 5345R020

**ATB REZISTENCE, JEJÍ VÝZNAM V SOUČASNÉ
MEDICÍNĚ A MOŽNOSTI PREVENCE**

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.

PLZEŇ 2016

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a všechny použité prameny jsem uvedla v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 31. 3. 2016

.....

vlastnoruční podpis

Poděkování

Děkuji RNDr. Karlu Fajfrlíkovi Ph. D. za odborné vedení práce, poskytování rad a materiálních podkladů. Dále děkuji MUDr. Evě Chudáčkové a MUDr. Renatě Hruškové za pomoc při zpracování praktické části bakalářské práce.

Anotace

Příjmení a jméno: Eliška Raunerová

Katedra: Katedra teoretických oborů

Název práce: ATB rezistence, význam v současné medicíně a možnosti prevence

Vedoucí práce: RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.

Počet stran – číslované: 42

Počet stran – nečíslované (tabulky, grafy): 20

Počet příloh: 1

Počet titulů použité literatury: 31

Klíčová slova: antibiotika – antibiotická politika – bakteriální rezistence – racionální terapie - *Staphylococcus aureus*

Souhrn:

V bakalářské práci se zabývám problematikou bakteriální rezistence k antibiotikům, která se stává globální hrozbou. V teoretické části se můžete dočíst o antibiotikách, jejich rozdělení a mechanismu účinku. Popsána je i antibiotická politika. Součástí je zároveň i problematika rezistence a podstata jejího vzniku a vzestupu. Poslední kapitola je věnována rodu *Staphylococcus aureus*, kterým se zabývám v praktické části.

Praktická část se věnuje možnostem zachytu zlatého stafylokoka a možnostem stanovení citlivosti k antibiotikům. Obsahuje statistické zhodnocení počtu methicilin rezistentních *Staphylococcus aureus* za dané období ve FN Plzeň a porovnání s uváděným celonárodním průměrem.

Anotation

Surname and name: Eliška Raunerová

Department: Department of theoretical fields

Title of thesis: ATB resistance, importance in contemporary medicine and prevention possibilities

Consultant: RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.

Number of pages – numbered: 42

Number of pages – unnumbered (tables, graphs): 20

Number of appendices: 1

Number of literature items used: 31

Key words: antibiotics - antibiotics policy - bacterial resistance - rational therapy - *Staphylococcus aureus*.

Summary:

In my bachelor thesis I examine the issues of bacterial resistance to antibiotics, which is quickly becoming a global threat. You can read about antibiotics, its distribution and the mechanism of the effect in the theoretical part. I also described the antibiotics policy. A part of my thesis is the issues of a resistance and the principle of its creation and growth. The last chapter is devoted to the genus *Staphylococcus aureus*, which I am examining in the practical part.

The practical part is devoted to the possibility of the interception of *Staphylococcus aureus* and ways to determine a sensibility to antibiotics. My work contains an evaluation of the quantity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in certain time-period in FN Plzeň and the comparison with the nationwide average.

Obsah

Úvod.....	11
Teoretická část.....	12
1 Antibiotika.....	12
1.1 Definice antibiotik a jejich obecné vlastnosti.....	12
1.2 Rozdělení antibiotik.....	12
1.2.1 Beta-laktamová antibiotika.....	12
1.2.1.1 Peniciliny.....	13
1.2.1.2 Cefalosporiny.....	13
1.2.1.3 Monobaktamy.....	14
1.2.1.4 Karbapenemy.....	14
1.2.2 Tetracykliny.....	14
1.2.3 Aminoglykosidy.....	14
1.2.4 Makrolidy.....	14
1.2.5 Linkosamidy.....	15
1.2.6 Amfenikoly.....	15
1.2.7 Peptidy (Polypeptidová antibiotika).....	15
1.2.8 Glykopeptidy (Glykopeptidová antibiotika).....	15
1.2.9 Ansamyciny.....	15
1.2.10 Antibakteriální chemoterapeutika.....	15
1.2.11 Lokální antibiotika.....	16
1.3 Mechanismus účinku antibiotik.....	16
1.3.1 Inhibice syntézy buněčné stěny.....	16
1.3.2 Poškození syntézy cytoplazmatické membrány.....	16
1.3.3 Inhibice proteosyntézy.....	16
1.3.4 Porucha syntézy nukleových kyselin.....	16
1.4 Zásady racionální antibiotické terapie.....	17
1.4.1 Správná volba antimikrobiální látky.....	17
1.4.2 Optimální a dostatečně dlouhá doba léčby.....	17
1.4.3 Adekvátní dávkování.....	17
1.4.4 Vhodná cesta podání.....	18
1.5 Nežádoucí účinky antibiotik.....	18
1.5.1 Projevy toxické.....	18
1.5.2 Projevy alergické.....	18
1.5.3 Projevy biologické.....	18
2 Antibiotická politika.....	19
2.1 Antibiotická střediska.....	19
3 Problematika bakteriální rezistence.....	20
3.1 Podstata vzestupu rezistence.....	21
3.2 Druhy rezistence.....	21
3.3 Vznik rezistence.....	21
3.3.1 Fenotypická adaptace.....	21
3.3.2 Genetické změny.....	22
3.4 Mechanismy rezistence.....	22
3.4.1 Tvorba inaktivujících enzymů.....	22
3.4.2 Zabránění průniku antibiotik do buňky.....	22
3.4.3 Bakteriální eflux.....	23
3.4.4 Změna cílového místa působení.....	23
3.4.5 Zapojení alternativní metabolické dráhy.....	23
3.5 Problémové druhy bakterií z hlediska rezistence.....	23

3.5.1	Staphylococcus aureus.....	23
3.5.2	Methicilin-rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>	24
Praktická část.....		25
4	Formulace zkoumaného problému.....	25
4.1	Cíl práce.....	25
4.2	Hypotézy.....	25
5	Materiál.....	26
5.1	Odběr biologického materiálu na mikrobiologické vyšetření.....	26
5.2	Druhy biologického materiálu a techniky odběru.....	26
5.2.1	Výtěry z kůže a sliznic.....	26
5.2.2	Odběr tekutého biologického materiálu.....	27
5.2.3	Odběr krve.....	27
5.2.4	Odběr moči.....	27
5.3	Kultivační půdy.....	28
5.3.1	Kultivační půdy vhodné pro záchyt rodu <i>Staphylococcus aureus</i>	29
5.3.1.1	Transportní půda Amiesova.....	29
5.3.1.2	Krevní agar.....	29
5.3.1.3	Mueller – Hinton Agar (M-H agar).....	29
6	Metodika.....	30
6.1	Kultivační průkaz infekčního agens.....	30
6.2	Podmínky kultivace bakterií.....	30
6.2.1	Dostatečná vlhkost prostředí.....	30
6.2.2	Optimální teplota.....	30
6.2.3	Optimální pH půdy.....	30
6.2.4	Dostatečné množství živin a růstových faktorů.....	30
6.2.5	Vhodné plynné prostředí.....	31
6.3	Obecná kultivace <i>Staphylococcus aureus</i>	31
6.4	Hodnocení narostlých kolonií.....	31
6.5	Stanovení citlivosti na antibiotika.....	32
6.5.1	Kvalitativní metody.....	32
6.5.1.1	Diskový difuzní test.....	33
6.5.2	Kvantitativní testy.....	34
6.5.2.1	Minimální inhibiční koncentrace (MIC).....	34
6.5.2.2	E-test.....	35
7	Prezentace a interpretace získaných výsledků.....	36
7.1	Hodnocení a srovnání získaných výsledků s celonárodním průměrem.....	45
8	Diskuse.....	50
Závěr.....		52
Seznam použité literatury		
Seznam tabulek		
Seznam grafů		
Seznam obrázků		
Seznam příloh		

Úvod

Antibiotika a bakteriální rezistence je téma, které mě už delší dobu zajímá, a proto jsem si ho zvolila i pro moji závěrečnou práci. Zároveň si myslím, že narůstající antibiotická rezistence různých mikrobů představuje v současné moderní době velmi aktuální celosvětový problém způsobený hlavně neuváženým předepisováním antibiotik pacientům s nejrůznějšími potížemi a celkově jejich vysokou spotřebou. Sama mám osobní zkušenost s chybným předepsáním antibiotik, která byla neúčinná. Zbytečně jsem do svého organismu dostala látky, které mi nepomohly, ba naopak. Po předepsání dalšího balení jiného druhu antibiotik jsem se začala více zajímat o toto téma a zjistila, že i tato druhá antibiotika byla v laboratoři vyhodnocena jako rezistentní.

Antibiotika jsou zázrak, který se ovšem musí umět používat. Je třeba je předepisovat po pečlivém uvážení a nejlépe po provedení laboratorních testů. Testy přesně určí, jaká látka spolehlivě zneškodní konkrétní typ mikroba, který pacientovi způsobuje onemocnění.

Názor, že antibiotika je možné podávat i v nejasných případech nebo dokonce jako profylaxe, protože neuškodí, je naprosto chybný. Nevhodně zvolený druh antibiotik může pacientovi způsobit různé vedlejší účinky či alergické reakce. Dochází k potlačení naší přirozené střevní mikroflóry, což vede k trávicím potížím, průjmům. Ženy mohou trpět gynekologickými potížemi. A to nejpodstatnější, dochází k adaptaci mikrobů na tyto látky a vzniku rezistencí.

Dalším důvodem pro volbu tohoto tématu je můj zájem o zdravý životní styl, ekologii a udržitelnosti životního prostředí. Jsme povinni pro naše budoucí generace, zajistit co nejméně poškozenou přírodu. Víme, že v dnešní době nejsou antibiotika masově užívána pouze u lidí, ale i u zvířat nebo v zemědělství. Nadměrně užívaná antibiotika se vylučují z lidského organismu přirozeným koloběhem do odpadních vod a zpět do ekosystému - do povrchových vod, které člověk opět konzumuje. Znamená to, že zátěž našeho organismu multirezistentními kmeny bakterií je daleko větší, než by se mohlo na první pohled zdát.

Cílem mojí bakalářské práce je proniknout do problematiky antibiotik a bakteriální rezistence a poukázat na tento globální problém. Najít možnosti předcházení vzniku rezistencí a zároveň v jaké míře se vyskytuje v České republice.

V praktické části bakalářské práce se zabývám výskytem rodu *Staphylococcus aureus* ve FN Plzeň v daném časovém období a porovnávám ho s celonárodním průměrem.

Teoretická část

1 Antibiotika

1.1 Definice antibiotik a jejich obecné vlastnosti

Antibiotika jsou látky, které svými účinky usmrcují některé mikroorganismy nebo potlačují jejich růst a množení. Jsou produkovány bakteriemi nebo houbami. Působení antibiotik je namířeno především proti bakteriím, některá však mohou být účinná i proti houbám a parazitickým prvokům. Antibiotika v České republice jsou vydávána pouze na předpis. [1]

Podle toho, zda antimikrobiální látka vznikla biologickou přírodní cestou, nebo zda byla připravena cestou chemickou, je rozdělujeme na *antibiotika* a *chemoterapeutika*. Ovšem v dnešní době se tyto dvě cesty často prolínají a řada antibiotik je připravena synteticky nebo jsou produkty původně přírodních antibiotik ještě chemicky upravovány. Označení antibiotika je tedy synonymem jak pro látky přírodní, tak látky syntetické. [2]

V současnosti v humánní a veterinární medicíně nachází uplatnění přibližně 70 látek působících proti mikrobům, avšak známo jich je přes 6000. Důvodem nevyužití všech těchto známých látek jsou jejich výrazné nežádoucí účinky a toxické působení na pacienta, převládající nad účinky pozitivními.[1]

Antimikrobiální látka užívaná jako léčivo musí splňovat důležitou podmínku. Dávka, kterou působí proti mikrobům a potlačuje jejich růst nesmí zároveň poškozovat náš makroorganismus. Musí tedy být selektivně toxická pro mikroby. Poměr mezi dávkou, která je toxická pro nás jako pro hostitele a dávkou, působící smrt mikroba se nazývá chemoterapeutický index. Čím je tato hodnota vyšší, tím je antibiotikum pro léčbu výhodnější, protože je méně jedovaté pro náš makroorganismus.

Rozeznáváme dva typy účinku antibiotik: cidní a statický. Baktericidní látky bakteriální buňku přímo usmrcují. Jejich působení je rychlé a nevratné. Klinický účinek se projeví do 48 hodin po podání látky. Z uvedených důvodů se tomuto typu dává přednost u závažných klinických stavů a při snížené obranyschopnosti nemocného. Mezi baktericidní antibiotika se řadí hlavně beta-laktamy (např. peniciliny a cefalosporiny), aminoglykosidy (streptomycin, gentamycin) nebo glykopeptidy (např. vankomycin).

Naproti tomu účinek bakteriostatických látek spočívá pouze v zastavení růstu a množení bakterií. S potlačenými mikrobi se pak může lépe vypořádat naše vlastní obranyschopnost. Klinický účinek bývá patrný až za 3-4 dny po zahájení terapie. Důležité je bakteriostatickou látku užívat až do konce léčby, při předčasném vysazení léku se totiž mikroby mohou opět pomnožit. Mezi bakteriostatická antibiotika patří například tetracykliny, chloramfenikol, makrolidy (erytromycin) a linkosamidy (linkomycin). [3]

1.2 Rozdělení antibiotik

1.2.1 Beta-laktamová antibiotika

Základní molekulu beta-laktamů tvoří beta-laktamový kruh skládající se ze tří atomů uhlíku a jednoho atomu dusíku. Účinek tohoto druhu antibiotik spočívá v navázání beta-laktamů na enzymy v bakteriální buňce, které se účastní syntézy peptidoglykanu v buněčné stěně. Tyto enzymy se označují zkratkou PBP (z anglického penicillin-binding proteins, proteiny vázající penicilin). Jsou účinné pouze v buňkách, které se aktivně množí. V případě, že dojde k navázání beta-laktamu na PBP, se enzymy inaktivují a v důsledku toho následuje inhibice tvorby buněčné stěny. Výsledkem je rozpad bakteriální buňky.

Všechna beta-laktamová antibiotika tedy působí baktericidně.

U beta-laktamů může často docházet ke vzniku vedlejších účinků mírnějšího stupně, jako jsou alergické reakce, např. vyrážka na kůži. V některých případech se mohou vyskytnout i závažnější komplikace jako je anafylaktický šok. Výhodou je naproti tomu nízká toxicita beta-laktamů. [3,4]

Nejčastější příčinou vzniku rezistence na beta-laktamy je poškození beta-laktamového kruhu, který je velmi choulostivý. Dojde ke vzniku beta-laktamáz - inaktivačních enzymů, které hydrolýzou rozpojí kruh a účinek antibiotik se ztrácí. Další příčinou mohou být pozměněné PBP v bakteriální buňce, na které se antibiotikum nenaváže. Znemožnění průniku beta-laktamů skrze membránu do buňky je poslední mechanismus vzniku rezistence. [3,4]

1.2.1.1 Peniciliny

Peniciliny řadíme mezi vysoce účinná antibiotika, která zároveň vykazují velice nízkou toxicitu vůči našemu makroorganismu. Jsou nejdéle používanými antibiotiky. Zdrojem jsou kultury plísní *Penicillium*. Výchozí strukturu všech penicilinových antibiotik tvoří kyselina 6-aminopenicillanová, která má různé další postranní řetězce. Ty mají vliv na vlastnosti jednotlivých antibiotik této skupiny. Liší se tedy šířkou antibakteriálního spektra a odolností vůči nízkému pH a beta-laktamovým enzymům. Jejich účinky jsou baktericidní. Mohou způsobovat zkřížené alergické reakce. [3, 4, 5]

Přírodní peniciliny mají úzké spektrum účinku a dělí se na acidolabilní a acidostabilní. Acidolabilní peniciliny rozkládá nízké pH v žaludku, a proto se podávají injekčně. Zástupcem je klasický benzylpenicilin (penicilin G). Acidostabilní peniciliny naproti tomu odolávají účinkům kyselé žaludeční šťávy, a proto je možné je podávat perorálně. Do této skupiny patří phenoxymethylpenicilin (penicilin V). Měl by patřit k nejčastěji podávaným antibiotikům. [3,4]

Rezistentní peniciliny jsou odolné vůči penicilináze. Dělíme je do dvou podskupin. První jsou vlastní rezistentní peniciliny (methicilin) a druhou isoxazolylderiváty (oxacilin). Používají se u vážných stafylokokových infekcí. Problémem však mohou být stále častěji se vyskytující kmeny *Staphylococcus aureus* rezistentní na tyto peniciliny (MRSA, z anglického methicillin-resistant *S. aureus*). [3,5]

Širokospektré peniciliny se vyznačují širším spektrem své antimikrobiální účinnosti. Vůči penicilináze jsou citlivé a zároveň působí i na gramnegativní tyčinky. Rozdělujeme je na aminopeniciliny, karboxypeniciliny a ureidopeniciliny.

Kombinace penicilinů tvoří širokospektré peniciliny a inhibitory penicilináz (kyselina klavulánová, sulbaktam a tazobaktam). Takto vznikají účinné léky s širokým terapeutickým využitím. Velmi dobře pronikají do tkání a využívají se hlavně u závažných infekcí. [5]

1.2.1.2 Cefalosporiny

Cefalosporiny se řadí opět do skupiny beta – laktamů a mají tak shodný mechanismus účinku. Na bakterie působí baktericidně tím, že potlačují syntézu buněčné stěny. Základní molekulu tvoří kyselina 7-aminocefalosporánová. Vykazují široké spektrum antibakteriální působnosti (avšak neúčinkují proti enterokokům a MRSA) a zároveň jsou málo toxická k makroorganismu. Při jejich užívání se mohou vyskytovat alergické kožní reakce nebo bolestivost při nitrosvaleovém podání.

Cefalosporinová antibiotika se dělí do čtyř generací podle různých kritérií. Prvním kritériem je šíře spektra jejich účinku vůči mikrobům, druhým je stupeň rezistence proti beta-laktamázám a posledním kritériem jsou jejich farmakologické vlastnosti. [3,6]

1. generace je nejstarší. Antibiotika této generace mají vysoký účinek proti

grampozitivním bakteriím (G+) a využívají se nejčastěji při léčbě nekomplikovaných streptokokových a stafylokokových infekcí.

2. generace má širší antimikrobiální spektrum. Jejich účinnost vůči grampozitivním mikrobům klesá, avšak roste u gramnegativních (G-). Indikovány jsou pro léčbu enterobakterů či anaerobních mikrobů.

3. generace se vyznačuje širokým spektrem účinnosti. Velice dobře pronikají do tkání a do cerebrospinální tekutiny. Jsou velice důležité při léčbě meningitid. Účinné jsou hlavně vůči gramnegativním tyčinkám. [6,7]

4. generace cefalosporinů se podává pouze parenterálně. Vyznačují se vysokou účinností vůči grampozitivním kokům, a proto se využívají k léčbě život ohrožujících infekcí. [3,5]

1.2.1.3 Monobaktamy

Jádro monobaktamů tvoří pouze substituovaný laktamový kruh. Klinické využití těchto přirozených beta-laktamů není, ovšem modifikací jejich molekuly lze získat účinnější a farmakologicky využitelné preparáty. Jediným prakticky používaným antibiotikem v této skupině je aztreonam. Jedná se o polosyntetické monobaktamové antibiotikum. Vyznačuje se odolností vůči beta-laktamázám. Předepisuje se k léčbě gramnegativních infekcí dolních a horních cest dýchacích a močových nebo septických stavů. Z důvodu nedostatečného vstřebávání z trávicího ústrojí se podává parenterálně. [6,8]

1.2.1.4 Karbapenemy

Jsou odolné vůči většině beta-laktamáz. Mají podobný účinek jako peniciliny a širokospektré cefalosporiny. Karbapenemy patří k nejmodernějším preparátům. Používají se jako rezervní antibiotika k léčbě infekcí vyvolaných nemocničními multirezistentními kmeny. Dále se indikují k léčbě těžkých komplikovaných infekcí (sepsí). [3,5]

1.2.2 Tetracykliny

Základem molekuly tetracyklinu jsou čtyři šestičlenné kondenzované cykly. Účinky jsou bakteriostatické a zahrnují jak grampozitivní tak i gramnegativní mikroby. Působí na principu poškození syntézy bílkovin na úrovni ribozomů. Mohou se podávat parenterálně, ale i perorálně, protože se dobře vstřebávají z trávicího traktu. Pro makroorganismus jsou málo toxické. Často však jejich užívání doprovází nežádoucí účinky jako gastrointestinální poruchy, poruchy tvorby zubní skloviny nebo nepříznivé ovlivnění růstu kostí. [3,6]

1.2.3 Aminoglykosidy

Základní stavební složkou molekuly aminoglykosidů jsou neobvyklé aminocukry. Mechanismus účinku proti grampozitivním a gramnegativním mikroorganismům je inhibice bakteriální proteosyntézy a poškození cytoplazmatické membrány. Výsledný efekt je baktericidní. Z trávicího ústrojí se tato antibiotika nevstřebávají, podávají se pouze parenterálně. Pro makroorganismus jsou ve velké míře toxické. Jedná se především o nefrotoxicitu, neurotoxicitu nebo ototoxicitu, která může vést až k poškození sluchu. Nejčastěji se používá silně ototoxický gentamicin, dále sem řadíme streptomycin nebo neomycin. [6,8]

1.2.4 Makrolidy

Makrolidy mají poměrně úzké spektrum účinnosti a jsou primárně bakteriostatické, protože inhibují proteosyntézu. Makrolidová antibiotika se dobře vstřebávají z trávicího

traktu, proto je možné je aplikovat jak perorálně, tak parenterálně. Toxicita vůči našemu makroorganismu je nízká. Stoupá pouze při vysokých dávkách a to vůči hepatocytům. Mezi přirozené makrolidy patří **erytromycin**, který se svým spektrem účinnosti podobá spektru přirozených penicilinů. [3,5,9]

1.2.5 Linkosamidy

Linkosamidy potlačují množení grampozitivních bakterií tím, že inhibují syntézu bílkovin. Primárně mají bakteriostatický účinek. Výborně pronikají do tkání (fagocytů) a kostní tkáně. Výjimkou je mozkomíšní mok. Toxicita linkosamidů je velmi nízká. Jako nežádoucí účinek se může projevit závažná pseudomembranózní kolitida. Mezi linkosamidy řadíme linkomycin a **klindamycin**. [3,5,8]

1.2.6 Amfenikoly

Jediným užívaným zástupcem této skupiny u nás je chloramfenikol. Jedná se o bakteriostatické antibiotikum, které působí na aerobní i anaerobní mikroby. Jeho výhodou je široké spektrum účinnosti a snadné pronikání do tkání, buněk i likvoru. Předepisuje se u těžkých infekcí, jako jsou hemofilové sepsy a meningitidy. Může se využít i u léčby břišního tyfu. Nevýhodou jsou těžké toxické účinky, z nichž nejzávažnější jsou nevratné poruchy kostní dřeně. [3,8]

1.2.7 Peptidy (Polypeptidová antibiotika)

Hlavními zástupci jsou polymyxiny, jejichž účinek zahrnuje gramnegativní bakterie a bacitraciny, které účinkují proti grampozitivním bakteriím. Oba zástupci mají baktericidní účinek a používají se především jako lokální antibiotika. Nevstřebávají se z trávicího ústrojí. Jsou značně toxické – převládá nefrotoxicita a neurotoxicita. [2,8]

1.2.8 Glykopeptidy (Glykopeptidová antibiotika)

Glykopeptidy jsou peptidy s navázanou cukernou složkou. Působí baktericidně – poškozují tvorbu bakteriální stěny grampozitivních mikrobů. Po podání perorální cestou nedojde k jejich vstřebání z trávicího traktu, a tak se využívá pouze cesta parenterální. Hlavním zástupcem této skupiny je vankomycin, který se využívá hlavně u bakteriologicky ověřených vážných stafylokokových a enterokokových infekcí. [3,6,8]

1.2.9 Ansamyciny

Ansamyciny jsou baktericidní látky se širokým antibakteriálním spektrem. Postihují grampozitivní i gramnegativní bakterie (*Mycobacterium tuberculosis*, chlamydie, legionelly). Je možné je aplikovat perorálně i parenterálně, díky jejich snadnému vstřebávání ze střeva. Klinicky se využívá pouze rifampicin a rifabutin. [2]

1.2.10 Antibakteriální chemoterapeutika

Rozdělení:

- **Sulfonamidy** – chemoterapeutika s širokým antibakteriálním spektrem a nízkou toxicitou. Dobře se vstřebávají ze střevního traktu a mají bakteriostatický účinek.
- **Pyrimidiny** – používají se společně s sulfamethoxazolem. V této kombinaci mají široké spektrum účinku a pozitivní farmakologické vlastnosti.
- **Nitroimidazoly** – působí baktericidně a to především na anaerobní bakterie.
- **Nitrofurany** – používají se především k léčbě infekcí močových cest, jejich účinek je bakteriostatický a ve vyšších koncentracích i baktericidní.

- **Chinolony** – používají se fluorované chinolony, které mají široké antimikrobní spektrum a výhodnou farmakokinetiku. [5]

1.2.11 Lokální antibiotika

Jako lokální antibiotika se označují léčiva používaná pro místní aplikaci (kůže, sliznice, tělní dutiny), eventuálně k perorálnímu podání léčiv, která se ze střeva nevstřebávají. Vzhledem k tomu, že lokální podávání antibiotik přináší celou řadu rizik (nárůst rezistence, toxické účinky, dráždivé a senzibilizační účinky), je jejich klinické využití značně omezené a také riskantní. [6, s. 89]

1.3 Mechanismus účinku antibiotik

Existuje několik mechanismů, kterými antimikrobiální látky zasahují do životního cyklu mikroorganismů. Chemická povaha antibiotik je různorodá, a proto je jejich působení v buňce velice rozmanité. Mechanismus účinku se liší podle odlišného tvaru a velikosti molekuly antibiotika. Pokud mají antibiotika shodnou strukturu i velikost je jejich způsob účinku na mikroby identický. Nejčastěji specificky zasahují do syntézy makromolekul buňky. Antibiotikum se v buňce váže na cílovou strukturu a touto vazbou poškodí a zabrání buňce v její funkci. [10,11,12]

1.3.1 Inhibice syntézy buněčné stěny

Látky, které poškozují buněčnou stěnu nebo její tvorbu, musí mít vysoký stupeň selektivní toxicity. Buněčná stěna je pro život bakterie nezbytně nutná, udržuje její tvar a optimální prostředí uvnitř buňky. Její poškození je tedy pro mikrobiální buňku fatální a vede k buněčnému rozpadu - lýze. Antibiotika, jejichž mechanismus účinku je založen na tomto principu účinkují pouze na bakterie ve stádiu růstu. Proto je jejich podávání vhodné v prvních fázích infekce. [2,13]

1.3.2 Poškození syntézy cytoplazmatické membrány

Cytoplazmatická membrána tvoří v buňce osmotickou bariéru a reguluje selektivní transport látek do buňky nebo naopak z buňky do okolí. Látky metabolicky potřebné pro buňku (aminokyseliny, nukleotidy) či důležité ionty jsou díky cytoplazmatické membráně kumulovány uvnitř. V případě, že na buňku působí povrchově aktivní antibiotika, dojde k poškození permeability cytoplazmatické membrány. Důsledkem poškození je nekoordinované unikání látek potřebných pro buňku do jejího okolního prostředí. Poškození je ireverzibilní. Antibiotika mají baktericidní efekt. Navíc je cytoplazmatická membrána úzce spojena se syntézou buněčné stěny a s replikací DNA. [2]

1.3.3 Inhibice proteosyntézy

Syntéza bílkovin probíhá na různých místech ribozomů. Bílkoviny se podílejí na všech základních životních procesech a jsou tak pro buňku nezbytné. Některá antibiotika ruší syntézu bílkovin, a tak způsobí poškození cílové buňky. Mezi tato antibiotika řadíme například tetracykliny nebo makrolidy. [10]

1.3.4 Porucha syntézy nukleových kyselin

Posledním mechanismem účinku antibiotik je narušování tvorby nukleových kyselin v různých fázích jejich výstavby. Antibiotické preparáty účinkující na tomto principu mají vysoký stupeň toxicity a řadíme mezi ně například sulfonamidy či chinolony. [2]

Tabulka 1**Rozdělení antibiotik podle mechanismu účinku**

Inhibice syntézy buněčné stěny	Peniciliny, cefalosporiny, monobaktamy, karbapenemy, vankomycin, bacitracin
Poškození syntézy cytoplazmatické membrány	Anfotericin B, azoly, polyeny, polymyxiny
Inhibice proteosyntézy	Aminoglykosidy, chloramfenikol, makrolidy, tetracykliny, linkomycin
Porucha syntézy nukleových kyselin	Sulfonamidy, trimetoprim, chinolony, rifampicin, pyrimetamin

Zdroj: [13]

1.4 Zásady racionální antibiotické terapie

Tyto zásady by měly sloužit pro základní orientaci v praktickém užívání antimikrobních látek. Nezbytnou součástí je úzká spolupráce s Antibiotickým střediskem (AS). Cílem jeho práce je vydávat doporučení, která přispívají k minimalizaci chyb a komplikací, které mohou nastat při antimikrobní terapii. [5]

1.4.1 Správná volba antimikrobiální látky

Volba antibiotika se liší podle toho, zda má být použito k léčbě infekce chronické nebo akutní. V případě chronické infekce je v první řadě nutné správně diagnostikovat původce onemocnění, který se následně izoluje. Druhým krokem je stanovení citlivosti antibiotika k tomuto původci. Ze stanovených účinných léků je vybrán ten, který má nejužší spektrum účinku a zároveň je vůči makroorganismu co nejméně toxický. Provádí se tzv. *cílená antibiotická terapie*.

Pokud se jedná o akutní infekci, ve většině případů se citlivost na antibiotika neprovádí, ale volí se antibiotikum, které je nejvíce vhodné pro léčbu daného patogenního mikroorganismu a má i vhodné farmakokinetické vlastnosti.

U pacientů, kteří trpí život ohrožující infekcí, je nutné zahájit léčbu co nejrychleji. Na průkaz původce a hodnocení nejvhodnějšího antibiotika není čas a indikována jsou širokospektrá antibiotika. Jedná se o septické stavy, infikované gangrény či popáleniny. [8,13]

1.4.2 Optimální a dostatečně dlouhá doba léčby

Doba léčby se odvíjí od znalosti původce onemocnění, od místa infekce a od celkového zdravotního stavu pacienta. Ve většině případů je postačující nepřetržitá 7 – 10 denní léčba. Účinnost vhodně zvolených antibiotik se projeví ústupem klinických příznaků a návratem laboratorních výsledků do fyziologických mezí.

1.4.3 Adekvátní dávkování

Pro velikosti dávky je rozhodující charakter infekce. Dále farmakologické vlastnosti zvoleného antibiotika a cesta podání. Neméně důležitý je i aktuální stav pacienta a jeho věk. V klinické praxi se nejčastěji přistupuje k dávkování, které doporučí výrobce. Ovšem nejvíce průkazná jsou doporučení získaná z nezávislých klinických studií. Dávkování stanovené výrobcem může být totiž ovlivněno snahou o co největší spotřebu léku a vysoké zisky. Rozeznáváme dávku jednotlivou, denní dávku a celkovou léčebnou dávku.

1.4.4 Vhodná cesta podání

Cesta podání může být parenterální nebo perorální. Volba jedné či druhé cesty je závislá na farmakokinetických vlastnostech antimikrobní látky. To znamená na schopnosti vstřebávat se, na distribuci a následném vylučování z organismu. Opět je rozhodující i zdravotní stav pacienta a druh infekce. K volbě parenterální cesty se přistupuje u těžkých systémových infekcí, u pacientů, jejichž stav neumožňuje tuto cestu podání (bezvědomí) nebo v případech, kdy se antibiotikum v trávicím traktu nevstřebává. Perorální cesta je vhodná k terapii lehkých a středně těžkých infekcí.

V průběhu léčby antimikrobiální látkou se provádí monitorování terapie. Je založeno na sledování klinického stavu pacienta. Pokud se vyskytnou známky selhávání léčby, je nutno pátrat po příčinách a zamezit vzniku nežádoucích a toxických účinků.

[13]

1.5 Nežádoucí účinky antibiotik

Poté, co se začala k léčbě využívat antimikrobní léčiva, bylo velmi rychle zjištěno, že tyto látky působí identickým mechanismem nejen na mikroorganismy, ale i na buňky makroorganismu. Základní životní procesy jsou totiž v těchto buňkách obdobné. V dnešní době máme k dispozici pestrou škálu antimikrobních preparátů, a tak je nezbytné, abychom při výběru léčby konkrétním antibiotikem znali jeho nežádoucí účinky. Nežádoucí účinky se dělí podle mechanismu svého vzniku. [5]

1.5.1 Projevy toxické

Toxické účinky antibiotik patří k těm nejzávažnějším. K jejich vzniku dochází při podávání vysokých dávek léků nebo při jejich toxickém hromadění v organismu. Poškození funkce některých orgánů, především jater a ledvin, snižuje schopnost vylučování preparátů z organismu a ty se kumulují v séru a tkáních. Vliv má tedy i současný zdravotní stav pacienta a způsob aplikace léčiva.

Toxické projevy se dělí podle orgánu, který je zasažen. Mohou být neurotoxické, hepatotoxické, hematotoxické, gastrointestinální nebo mohou vznikat lokální reakce po nitrosvalovém podání. [3]

1.5.2 Projevy alergické

Prakticky všechny antimikrobní látky mohou vyvolat alergickou reakci, nejčastěji však doprovází léčbu penicilinem. Alergické projevy se rozdělují podle času, který uplyne od podání léku do projevu alergie. Bezprostřední projevy nastupují 2 minuty až 2 hodiny po podání a to jako anafylaktický šok nebo angioneurotoxický otok. Urychlené projevy vznikají po 2 až 24 hodinách po aplikaci a projevují se jako kopřivka na kůži. Projevy pozdní nastupují po 24 hodinách jako syndrom sérové nemoci, syndrom orgánových lézí nebo jako syndrom hemolytické anemie. [6]

1.5.3 Projevy biologické

Biologické projevy jsou následkem porušení ekologické rovnováhy mezi mikro a makroorganismem antimikrobní látkou. Nejzávažnějším projevem je změna infekčního agens, kdy dochází ke změně citlivé bakteriální flóry na flóru rezistentní k antibiotikům. [5]

2 Antibiotická politika

Antibiotickou politiku je možné definovat jako souhrn opatření, jejichž cílem je vysoká kvalita používání antibiotik ve smyslu účinné, bezpečné a nákladově efektivní léčby a profylaxe a která současně omezují riziko vzestupu antibiotické rezistence. Cílem antibiotické politiky je dlouhodobé zachování co nejširších možností účinné a bezpečné antimikrobiální léčby infekcí. V České republice je praktické uskutečňování antibiotické politiky zajišťováno Antibiotickými středisky. [14, s. 387]

Smyslem působení antibiotické politiky je zabránit nesprávnému a nadbytečnému užívání antibiotik, které je až překvapivě časté. Stanovuje obecně platné zásady, kterými by se při předepisování antimikrobních léků měli lékaři řídit. [14]

Světová zdravotnická organizace (WHO) v září roku 2001 započala globální boj proti vzniku a šíření antibiotické rezistence a od roku 1977 vydává seznam, který napomáhá všem státům volit nejúčinnější antimikrobní léky první linie. Mezinárodní doporučení, která se týkají rozváženého užívání antibiotik a antibiotické politiky jsou rozhodující také pro Českou republiku. [15]

2.1 Antibiotická střediska

Jak již bylo řečeno, za praktickou realizaci antibiotické politiky jsou odpovědná Antibiotická střediska, která jsou součástí oddělení lékařské mikrobiologie. Tato střediska mají několik úkolů:

- a) kontrolovat dodržování zásad správné antibiotické praxe tak, aby se antibiotika podávala uvážlivě a to jak v primární péči, tak v péči ambulantní a lůžkové,
- b) sledovat a analyzovat údaje o lokální a regionální epidemiologii antibiotické rezistence a sledovat spotřebu a používání antibiotik,
- c) poskytovat informace pro národní a mezinárodní surveillance antibiotické rezistence (surveillance je monitorování a získávání informací o rozšíření rezistence v populaci),
- d) podílet se na vytváření a aktualizaci místních postupů pro užívání antibiotik, které vycházejí z národních odborných doporučení garantovaných Subkomisí pro antibiotickou politiku České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně (ČLS JEP),
- e) zajišťovat vzdělávání a informovanost odborné i laické společnosti a podílet se na prevenci a kontrole šíření multirezistentních mikrobů a infekcí spojených se zdravotní péčí v nemocnici. [16]

3 Problematika bakteriální rezistence

Světová zdravotnická organizace definuje bakteriální rezistenci jako schopnost bakteriální populace přežít účinek inhibiční koncentrace daného antimikrobního preparátu. Od objevení antimikrobiálních látek před více než 70 lety se stala antibiotika vedoucími zbraněmi v léčbě bakteriálních infekcí. V dnešní době je moderní zdravotní péče závislá na antimikrobiálních lécích, které využívá jak k léčbě infekčních onemocnění, tak i k prevenci jejich vzniku. Nesprávné a nadbytečné užívání těchto léků vede ke vzniku rezistentních bakterií a genů, které ohrožují lidské zdraví. Přispívá tomu i rostoucí spotřeba antibiotik v zemědělství a potravinářském průmyslu. Antibiotická rezistence ohrožuje schopnost zdravotnických sektorů efektivně kontrolovat a ovládat infekci. Dále více než dvojnásobně zvyšuje morbiditu (nemocnost populace), podstatně prodlužuje dobu hospitalizace pacienta a navyšuje náklady na zdravotní péči. [17,18]

Antimikrobiální rezistence je odolnost mikroba vůči antimikrobiálnímu léku, ke kterému byl dříve citlivý. K tomu dochází v případě mutace mikroorganismu nebo získání genu rezistence. Rezistentní organismy (bakterie) jsou schopny odolat působení antimikrobiálních preparátů jako jsou antibiotika. Standardní léčba se stává neúčinnou a infekce přetrvává a může se šířit.

Se zvyšováním bakteriální odolnosti se snižuje počet efektivně účinných antibiotik a v budoucnu může nastat situace, že žádná antibiotika nebudou schopná léčit život ohrožující infekce. Velký problém již teď můžeme vidět v nemocnicích, kde se odolné kmeny bakterií opakovaně vyskytují u hospitalizovaných pacientů, kteří jsou následně nuceni zůstat na izolaci. Úplné omezení možnosti zvolit správná, citlivá antibiotika (vzhledem k rezistenci) u kriticky nemocných pacientů, může vážně ohrozit jejich šance na přežití.

Situace v Evropě

Antimikrobiální rezistence a bakteriální kmeny mimořádně odolné vůči antibiotikům se stávají narůstajícím celosvětovým problémem pro veřejné zdraví. V evropském regionu Světové zdravotnické organizace dosahuje rezistence patogenů více než 50 % a nové mechanismy odolnosti stále vznikají a rychle se šíří.

Podle Evropského střediska pro prevenci a kontrolu nemocí se odhaduje, že se každý rok ve státech Evropské unie, Norsku a na Islandu vyskytne 400 000 případů infekcí způsobených rezistentními kmeny bakterií. Z tohoto počtu je asi 25 000 případů smrtelných.

Boj Světové zdravotnické organizace s rezistencí na antibiotika v Evropě

V roce 2011 přijala WHO strategický akční plán v 53 zemích této oblasti. Ten definuje klíčové oblasti pro opatření na ochranu a zároveň má 7 strategických cílů:

1. posílit koordinaci a spolupráci mezi jednotlivými odvětvími zdravotnictví,
2. posílit dohled nad rezistencí vůči antibiotikům,
3. podporovat racionální užívání antibiotik a posílit dohled nad jejich spotřebou,
4. posílit kontrolu infekcí a dohled v oblastech zdravotní péče,
5. bránit vzniku rezistencí ve veterinárním a potravinářském odvětví,
6. podporovat výzkum a vznik nových léků,
7. zlepšit informovanost a bezpečnost pacientů. [17]

3.1 Podstata vzestupu rezistence

Rezistence mikrobů k antibiotikům se stala problémem jak biologickým, tak genetickým, farmakologickým i epidemiologickým. Na předchozích stránkách jsem se již zabývala podstatou vzniku rezistentních kmenů bakterií. Hlavní příčinou je tedy zbytečné a nevhodně zvolené užívání antibiotik. Jejich zvýšená spotřeba jako následek předepisování antibiotik k léčbě banálních infekcí, u kterých není prokázán jejich skutečný vliv na klinický průběh nemoci.

Bakteriální prokaryotické buňky jsou jednoduché organismy, které se rychle množí. V průběhu evoluce u nich došlo k vývoji jedinečných genetických a fenotypových znaků, díky kterým jsou schopny odolávat účinku antibiotik. Počet takto geneticky změněných bakterií stoupá, a tak se rezistence stává globálním problémem. Výběr účinných látek se snižuje a současně stoupají náklady spojené s léčbou. A proto je výzkum antibiotické rezistence jednou z priorit veřejného zdravotnictví. [10,19]

3.2 Druhy rezistence

Prvním typem je rezistence primární či přirozená. Jedná se o vrozenou odolnost bakterií, které se vyskytují mimo spektrum účinnosti dané antimikrobiální látky. Nezáleží na tom, zda bakterie již dříve přišla do kontaktu s daným antibiotikem nebo ne. Přirozeně rezistentní bývají bakterie nebo plísňe, které ve svém životním prostředí žijí saprofytičky. To znamená, že pro svou výživu využívají organické látky z odumřelých organismů. Zároveň v jejich prostředí dochází k vzájemné konkurenci mikroorganismů. Konkuruje si mikroorganismy produkují antibiotika, a tak je přirozená rezistence důsledkem adaptace mikrobů na tato antibiotika. Typickým příkladem jsou enterokoky, které přirozeně osidlují tlusté střevo a musí přežívat mezi ostatními druhy bakterií. [2,8]

Přirozená rezistence je u buněk podmíněna buněčnou stěnou, která je pro antibiotika nepropustná, absencí cílové struktury, na kterou by se antibiotikum navázalo nebo transportním systémem, který by jej dopravil k místu účinku. Poznatky o přirozené rezistenci k antibiotikům u konkrétních druhů bakterií jsou důležité hlavně proto, že tato antibiotika následně nelze použít k léčbě. [10,12]

Druhým a závažnějším typem je rezistence sekundární či získaná. V průběhu dlouhodobé nebo nevhodné antibiotické léčby dochází ke změně v genomu buňky a populace bakterií, která byla vůči danému léku původně citlivá se stává rezistentní a léčba neúčinná. [11]

Sekundární rezistence se dále dělí podle rychlosti svého vzniku. Typ sekundární rezistence, který vzniká po dlouhodobém užívání antibiotik se nazývá penicilinový. Typický je pro penicilin, chloramfenikol nebo bacitracin. Naopak je tomu u streptomycinového typu, který je charakteristický rychlým vývojem vysoce rezistentních bakteriálních kmenů. Prokázán byl u antibiotik streptomycinu či erytromycinu. [13]

3.3 Vznik rezistence

Rezistence mikroorganismů na antimikrobiální látky může vzniknout buď fenotypickou adaptací nebo jsou podklady pro vznik rezistence genetické. [6]

3.3.1 Fenotypická adaptace

V průběhu vzniku rezistence dochází k poškození funkce represorických genů a následkem toho se vytvoří nové metabolické pochody. Přizpůsobení bakterií těmto

metabolických pochodů se nazývá fenotypická adaptace. Fenotypickou adaptaci lze překonat navýšením dávek antibiotik nebo naopak ukončením léčby. Vzhledem k tomu, že tyto změny jsou přechodné, po vysazení antibiotik se obnoví původní metabolické pochody. [2]

3.3.2 Genetické změny

Příčinou vzniku rezistence je buď mutace v genu (*mecA* gen) nebo transport genu rezistence prostřednictvím plasmidu do další buňky.

V prvním případě dochází ke spontánní mutaci genu, jehož úkolem je kódovat molekulu, která představuje cílovou strukturu antibiotika. Mutace způsobí takovou změnu cílové molekuly, že vůči ní antibiotikum ztrácí svou účinnost. Tato rezistence se nazývá také *chromozomální* (mutačně – selekční). Jedná se o pozměnění genu, které vzniká bez předchozího kontaktu bakteriální buňky s antibiotikem a přenáší se na buňku dceřinou. [2,3]

Druhý případ představuje převzetí genetického materiálu od rezistentních buněk. Geny rezistence jsou umístěny mimo chromozomy, proto se tento typ rezistence nazývá *extrachromozomální* (přenosná – infekční) rezistence. Transport genu zodpovědného za odolnost vůči antimikrobiálním látkám je zprostředkován pomocí faktorů R-plasmidů nebo transpozonů. [2]

3.4 Mechanismy rezistence

Bylo prokázáno pět hlavních mechanismů, které jsou schopny vyvolat rezistenci vůči antibiotikům. U některých mikrobů může docházet ke vzniku kombinací mezi jednotlivými mechanismy. [20]

3.4.1 Tvorba inaktivujících enzymů

Účinkem inaktivujících enzymů dochází k poškození nebo pozměnění molekuly antibiotika. To se pak stává neúčinné. Ke vzniku tohoto mechanismu postačí syntéza pouze jediného druhu bílkoviny. Rezistence je tak jednoduše přenosná mezidruhově i mezi jednotlivými mikroby, protože může být kódována pouze jedním genem. Také se rychle šíří.

Tento mechanismus je zároveň velmi účinný k ochraně mikroba před antibiotikem. Pokud je vyprodukovaný enzym dostatečně výkonný, stačí pouze malé množství molekul enzymu k destrukci antibiotika. Na druhou stranu je velmi snadné mechanismus enzymů poškodit aplikací falešného substrátu. Jeho štěpením dochází k zablokování aktivního centra enzymu. Jako příklad inaktivujících enzymů mohou být beta-laktamázy, které rozštěpí jádro beta-laktamových antibiotik.

3.4.2 Zabránění průniku antibiotik do buňky

Pro tento mechanismus je podstatná dvojí membrána, kterou jsou obaleny především gramnegativní bakterie. Vnější část membrány tvoří póry (poriny), prostřednictvím kterých buňka komunikuje s vnějším prostředím. Poriny selektivně propouští jen určité molekuly. V případě, že dojde ke změně vlastností pórů, může dojít k zamezení průniku antibiotika do bakteriální buňky. S touto změnou je ovšem spojena i změna přívodu fyziologických látek do této buňky, a tak je rezistentní buňka trvale znevýhodněna.

3.4.3 Bakteriální eflux

Tímto mechanismem se bakterie brání proti zániku. Jedná se o aktivní transport antibiotika z intracelulárního prostoru buňky do okolního prostředí. Zamezuje se tak kumulaci antibiotika uvnitř buňky, snižuje se jeho koncentrace a tím pádem i jeho účinek. Bakteriální buňka využívá několik efluxových systémů, prostřednictvím nichž odčerpává toxiny a nežádoucí produkty metabolismu. Změnou efluxového mechanismu se ale buňka opět dostává do méně výhodné situace. Transport z intracelulárního prostoru se netýká pouze antibiotika, ale i dalších látek, a tak může dojít k poškození vnitřního prostředí bakteriální buňky. Tetracykliny, makrolidy nebo chinolony jsou antimikrobiální látky, které jsou inaktivovány tímto mechanismem. [8]

3.4.4 Změna cílového místa působení

Navázání na cílovou strukturu v buňce je hlavním mechanismem účinku antibiotik. Modifikace cílového místa působení je dalším mechanismem rezistence. Změna cílové struktury znamená snížení nebo úplné zablokování její afinity k antibiotiku. [2]

3.4.5 Zapojení alternativní metabolické dráhy

Na principu tohoto mechanismu vzniká například rezistence na sulfonamidy. Tyto antimikrobiální látky jsou schopny zastoupit substrát při tvorbě kyseliny listové. Rezistentní mikroby jsou schopny zapojit jinou metabolickou dráhu, a tak zablokovaný krok k tvorbě kyseliny listové obejít. [8]

3.5 Problémové druhy bakterií z hlediska rezistence

Existuje velké množství problémových bakteriálních druhů a některé z nich způsobují velmi závažná onemocnění. Stále častěji se setkáváme s enterokoky rezistentními k vankomycinu nebo pneumokoky rezistentními k penicilinu a cefalosporinům 3. generace. V nemocničním prostředí způsobují u hospitalizovaných pacientů terapeutické problémy především *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* a také *Salmonella*. Gonokoky rezistentní vůči penicilinům, tetracyklinu a makrolidům vytvářejí problematickou situaci v oblasti cestování a především ve společenském sektoru nekontrolovatelné promiskuity a prostituce. Méně vyspělé země světa, ale i ty ekonomicky silné, zatěžuje mnohočetná rezistence *Mycobacterium tuberculosis*.

Podrobněji se budu věnovat stafylokokům rezistentním k (methicilinu) oxacilinu (MRSA), protože jsou hlavním tématem praktické části bakalářské práce. Kmeny MRSA se vyskytují především v nemocnicích jako původci nozokomiálních nákaz. Jsou přítomny i u osob v komunitě, kde se vyvinula odolnost vůči vankomycinu. [10]

3.5.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus nebo také „zlatý stafylokok“ se vyskytuje přibližně u jedné třetiny populace na kůži a sliznicích nosu a dutiny ústní jako součást běžné rezidentní flóry. Tito lidé jsou bezpříznakoví nosiči. V případě snížení imunity a přirozené odolnosti se ale může prosadit jako patogen způsobující infekce ohrožující život. Infekce mohou být exogenní i endogenní. Exogenní infekce pochází z vnějšího okolí a šíří se kapénkovou cestou a kontaktem. Bránou vstupu infekce je porušená kůže nebo sliznice. Rizikovou skupinu lidí tvoří HIV-pozitivní jedinci, toxikomani užívající drogy intravenózně, alkoholici. Dále dialyzovaní pacienti, diabetici a osoby s imunodeficity. [8,21,22]

Stafylokoky jsou poměrně odolné mikroby. Přežívají vyschnutí i teploty kolem 60°C. Jsou schopny množit se i v prostředí s 10% NaCl. Zlatý stafylokok je vybaven velkým počtem faktorů virulence. Jedná se o geneticky, strukturálně nebo biochemicky determinované vlastnosti, které podmiňují vznik infekce. Hovoříme např. o peptidoglykanu

v buněčné stěně mikroba, který účinkuje jako endotoxin. [3,23]

Nejčastějším onemocněním, které tento patogen způsobuje jsou hnisavé infekce ran (popálenin nebo pooperačních ran). Typicky jsou doprovázené vznikem abscesu. Jedná se o ohraničené zánětlivé ložisko hnisu. Infikované rány bývají často bránou vstupu stafylokoka přes mizní uzliny až do krevního oběhu, což vede k celkovému selhání organismu neboli sepsi. Méně často je zlatý stafylokok zodpovědný za infekce s toxickými příznaky. Má totiž schopnost produkovat stafylokokové toxiny. Jejich následkem může u pacienta propuknout syndrom toxického šoku.

Staphylococcus aureus má také schopnost kontaminovat potraviny (např. zmrzlina, bramborový salát). Jejich požitím dochází ke vzniku stafylokokové enterotoxikózy. Nejedná se tedy o infekci ale o intoxikaci. [3,21]

Diagnóza je založena na přímé kultivaci a mikroskopii. Odebíraným materiálem může být krev, hnis, tkáň nebo stěry z kůže. Dle potřeby se u izolovaných kmenů prokazuje tvorba toxinu. K detekci je možné použít i genetické metody (PCR).

3.5.2 Methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*

MRSA patří mezi nejvýznamnější multirezistentní patogeny. Jedná se o rod *S. aureus* rezistentní k methicilinu (respektive k oxacilinu v podmínkách České republiky) a všem ostatním beta-laktamovým antibiotikům. Beta-laktamová rezistence bývá obvykle doprovázena i rezistencí k dalším antimikrobiálním preparátům. Ke klindamycinu, gentamycinu a erytromycinu současně je rezistentní více než 96% kmenů.

MRSA je původcem obdobných infekcí jako zlatý stafylokok, ale jeho závažnost spočívá v obtížné léčbě, vzhledem k jeho odolnosti vůči většině podávaných antibiotik. Je to významný nozokomiální patogen. Infekce se šíří v prostředí nemocnice a ohrožuje především pacienty po chirurgických zákrocích a s otevřenými ranami. K přenosu dochází nejčastěji přímo rukama ošetřujícího personálu, méně často prostřednictvím vyšetřovacích pomůcek (stetoskop). Pacienti se stafylokokovou infekcí by měli být léčeni v izolaci a důležité je i striktní dodržování základních hygienicko-epidemiologických opatření. Optimální léčebný postup je nutné konzultovat s lékařem antibiotického střediska. [18,20]

Praktická část

4 Formulace zkoumaného problému

Stanovení poměrného zastoupení izolátů *S. aureus* rezistentních k oxacilinu, erytromycinu a/nebo klindamycinu ve FN Plzeň.

Testovaným souborem izolátů jsou izoláty *S. aureus*, u nichž bylo rozhodnuto lékařem o stanovení antibiogramu v mikrobiologické laboratoři FN Plzeň. Data jsou, pro zajištění náhodného výběru, sbírána vždy každý 10. den v měsíci za celý rok 2015. Z celkového počtu zajištěných izolátů jsou vyloučeny opakující se izoláty od jednoho pacienta. Výsledná procenta jednotlivých rezistencí jsou porovnána s uváděným celonárodním průměrem.

4.1 Cíl práce

Cílem mojí bakalářské práce je proniknout do problematiky antibiotik a bakteriální rezistence a poukázat na tento globální problém. Najít možnosti předcházení vzniku rezistencí a zároveň v jaké míře se vyskytuje v České republice.

V praktické části u souboru náhodně vybraných izolátů *S. aureus* zjistit citlivost k oxacilinu, erytromycinu a klindamycinu a srovnat četnost rezistentních izolátů s uváděným celonárodním průměrem. A dále vypočítat rezistence k erytromycinu a klindamycinu u oxacilinu citlivých *S. aureus* (MSSA).

4.2 Hypotézy

1. Infekce MRSA se nejčastěji vyskytují v nemocničních zařízeních.
2. Výskyt MRSA ve FN Plzeň odpovídá celonárodnímu průměru.
3. Výskyt rezistencí ke klindamycinu ve FN Plzeň odpovídá celonárodnímu průměru.

5 Materiál

5.1 Odběr biologického materiálu na mikrobiologické vyšetření

Klíčem k úspěchu pro spolehlivý výsledek mikrobiologického vyšetření je správně provedený odběr biologického materiálu. Vhodně vybraný druh vzorku a jeho rychlý transport do laboratoře, kde následuje jeho vyšetření podle zásad správné laboratorní praxe. Důležitá je i odborná klinická interpretace získaných výsledků. Všechny tyto kroky vedou ke stanovení přesné etiologické diagnózy a odpovídající léčby. Umožňují také zajistit preventivní a profylaktická opatření. [24,25]

Obecná pravidla pro odběr vzorků:

- a) odebrat správný materiál, ve kterém se podle povahy infekčního onemocnění nachází infekční agens a lze ho snadno prokázat,
- b) odebrat dostatečné množství materiálu k vyšetření,
- c) použít správnou techniku odběru, vhodnými nástroji a do vhodných odběrových nádob,
- d) materiál odebrat sterilně a zabránit kontaminaci vzorku,
- e) odběr provést před zahájením antibiotické léčby,
- f) dopravit vzorek v co nejkratší době do laboratoře, je možné použít transportní půdy,
- g) v případě nutnosti uchovávat vzorky v chladu a ve tmě,
- h) materiál správně označit jménem pacienta a přiložit průvodní list, díky kterému je možné materiál přesně identifikovat (druh materiálu, datum a čas odběru, jméno lékaře, atd.). [24,26]

5.2 Druhy biologického materiálu a techniky odběru

5.2.1 Výtěry z kůže a sliznic

Tyto výtěry se provádí pomocí sterilních odběrových souprav, které obsahují vatové tampony – vatové smotky navinuté na špejli nebo na hliněném drátku. Před použitím je vhodné tampon navlhčit sterilním fyziologickým roztokem. Součástí souprav jsou i zkumavky s transportním médiem, kam se po odběru vkládají vatové tampony. Nejpoužívanějším transportním médiem je půda Amies (viz kapitola 5.3.1.1)

Výtěry se provádí z různých částí lidského těla:

- **Výtěr z krku** – sterilním vatovým tamponem „výtěrovkou“ se setře šroubovým pohybem povrch obou mandlí, popřípadě špičkou tamponu vytřeme i ložisko hnisu. Tampon se nesmí dotknout kořene jazyka, aby nedošlo ke kontaminaci ústní flórou. Odběr se provádí nejlépe ráno, nalačno a před ústní hygienou, kdy je stále zachována ústní flóra. Tampon se vloží do transportního média.
- **Výtěr z dutiny nosní** – stejným postupem se setřou sliznice obou dolních nosních průduchů.
- **Výtěr z nosohltanu** – pro tento druh odběru je vhodný vatový tampon na drátě, který má schopnost se ohýbat pod vhodným úhlem 90 – 110°. K fixaci jazyka se použije lékařská „špachtle“ a tamponem se setře sliznice v klenbě nosohltanu.
- **Výtěr z laryngu** – opět se používá sterilní tampon na drátu, který se v tomto případě ohýbá pod úhlem 120 – 150°. Tampon se zavede za epiglotis a v důsledku vyvolaného kašlacího reflexu se kapénky sekretu z laryngu, trachey a bronchů zachytí na tamponu.

- **Výtěr z ucha** – krouživým pohybem se za použití sterilního vatového tamponu na drátku setře povrch vnějšího zvukovodu.
- **Výtěr ze spojivkového vaku** – pro odběr se používá zvlhčený tampon, je nutné odchlípnout víčko a odebrat sekret ze spojivkového vaku. Dále se provádí stěr z vrátek na spojivce, rohovce nebo okraje víček.
- **Výtěr z ran a kožních lézí** – sterilním tamponem se vytře spodina rány při její periférii.
- **Výtěr z pochvy** – tento odběr se provádí se současnou kontrolou poševním zrcadlem. Materiál se odebírá vatovým tamponem nejčastěji z děložního čípku nebo klenby poševní.
- **Výtěr z rektu** – sterilním a zvlhčeným vatovým tamponem se provede krouživým pohybem výtěr z konečníku. Tampon se opět vkládá do bakteriologického transportního média.

5.2.2 Odběr tekutého biologického materiálu

Tekutým biologickým materiálem je míněn hnis, punktát, sekret, likvor, sliny či sputum. Tento infekční materiál lze odebrat sterilní odběrovou soupravou, která obsahuje zazátkované zkumavky a speciální kontejnery a punkční jehly.

- **Odběr hnisu či punktátu** – k odběru se používá sterilní stříkačka, ve které je možné materiál i transportovat. Následně se jehla zapíchne do sterilní gumové zátky. Další možností zajištění tekutého infekčního materiálu je odběr punkční jehlou do sterilní zkumavky.
- **Odběr sputa** – sekret z dýchacích cest se izoluje po ránu, nalačno. Před odběrem je nutné vypláchnout ústa čistou vodou a zhluboka zakašlat. K zachytu vykašlaného sputa se používá sterilní plastový kontejner s pevným uzávěrem.
- **Odběr mozkomíšního moku** – likvor je nutno odebírat za přísně aseptických podmínek. Místo odběru (mezi bederními obratli) se dokonale dezinfikuje a je proveden vpich lumbální jehlou. Lumbální punkcí je odebráno 3 - 5 ml likvoru do injekční stříkačky. Odebraný materiál se musí ihned dopravit do laboratoře a to ve sterilní zkumavce s pevným uzávěrem.

5.2.3 Odběr krve

Krev na kulturační vyšetření se odebírá nejméně dvakrát během dne, a to ze dvou různých míst krevního řečiště. Místo vpichu se musí dokonale dezinfikovat. Odebere se 10 – 20 ml krve do injekční stříkačky a následně se aplikuje skrze gumovou zátku do speciální hemokultivační lahvičky pro aerobní a anaerobní kultivaci. Součástí této lahvičky je živný bujón a protisrážlivé činidlo. Transport do laboratoře je nutný ihned.

V laboratoři se hemokultivační lahvičky vkládají do detekčního automatu, který registruje případné pozitivní množení bakterií, které je doprovázeno zvýšenou tvorbou CO₂. To se projevuje změnou barvy indikátoru nebo zvýšenou fluorescencí. Zmíněné změny přístroj automaticky signalizuje.

5.2.4 Odběr moči

Moč se odebírá v množství 3 – 5 ml do sterilních nádobek s pevným uzávěrem. Ústí uretry je fyziologicky osídleno mikroflórou, a tak je nutné před odběrem tuto část těla omýt mýdlem, aby nedošlo ke kontaminaci vzorku. Odebírá se střední proud moči.

[24,25,26]

5.3 Kultivační půdy

Kultivační půdy nebo také média lze klasifikovat podle různých hledisek. Dělí se podle konzistence, složení a funkce. Rozdílnou konzistencí jsou určeny půdy pevné nebo tekuté. Podle složení rozlišujeme média přirozená a syntetická. A poslední rozdělení dle funkce zahrnuje půdy základní, obohacené, diagnostické, selektivní, selektivně – diagnostické, transportní a pomnožovací. [3]

- **Pevné půdy** – nebo také kultivační média. Podstatou jejich výroby je přidání 1 – 2% agarové řasy do tekutého základu, čímž dojde k jeho ztužení. Agar tvoří směs polysacharidů (agarózy a agaropektinu), které jsou extrahovány z mořských řas. Bakterie na těchto půdách rostou v charakteristických koloniích.
- **Tekuté půdy** – nebo také pomnožovací média. Jedná se o rozmanité druhy bujónů. Používají se k pomnožení bakterií, protože díky vodnému prostředí živiny snadno procházejí k množícím se mikrobům. Růst se ve zkumavkách s půdou projeví zákalem nebo blankou na hladině, a tak nerozlišíme čistou kulturu od směsi bakterií.
- **Přirozené a syntetické půdy** – většina půd používaných v lékařské mikrobiologii jsou právě půdy přirozené neboli komplexní. Jejich základní složkou je živný bujón, který není chemicky ošetřen. Naopak půdy syntetické jsou složeny z chemicky definovaných sloučenin. [3,24]
- **Základní půdy** – slouží k všeobecnému použití. Je možné na nich kultivovat většinu běžných bakterií, protože obsahují velké množství živin. Základem byl uvařený masový bujón (vývar z masa). V dnešní době se používají sušené masové extrakty. Součástí základních půd je i pepton – produkt enzymatického natrávení masa (ale také mléka nebo sóji) a 0,5 % NaCl.
- **Obohacené půdy** – tyto půdy jsou určeny pro kultivaci bakterií, které jsou velice náročné na svůj růst a požadují přítomnost speciálních růstových faktorů. Z toho důvodu jsou půdy obohaceny o vitaminy, aminokyseliny, cukry, železité soli nebo koenzymy. [27]
- **Diagnostické půdy** – díky diagnostickým půdám lze přesně určit, o jakého mikroba se jedná, a to na základě rozdílných vlastností mikrobů a změnách v jejich metabolismu, které se na půdě projeví. Média obsahují substrát, na který mikrob působí a mění ho. Vzniklé změny se ozřejmí pomocí indikátoru a jsou specifické pro daného mikroba.
- **Selektivní půdy** – zde rostou pouze vybrané mikroby. Půdy totiž obsahují inhibitory růstu, které růst ostatních nežádoucích mikrobů potlačí. Umožňují tak selekci bakterií, o jejichž růst máme zájem. Jako typický inhibitor růstu se používá např. NaCl nebo různá antibiotika. [3]
- **Selektivně diagnostické půdy** – využívají kombinaci funkcí půd selektivních a diagnostických. Jejich obsahem jsou jak inhibitory růstu, tak indikátory. To umožní současně selektivní záchyt mikroba i jeho diagnostiku. [23,27]
- **Transportní půdy** – slouží k transportu mikrobů s nízkou odolností a zajistí jejich přežití během přepravy do laboratoře. Vyrábí se v tekutém či polotuhém skupenství a obsahují látky (např. aktivní uhlí), které zpomalují metabolismus mikrobů a zároveň absorbují jeho toxické produkty. [3,24]

5.3.1 Kultivační půdy vhodné pro záchyt rodu *Staphylococcus aureus*

5.3.1.1 Transportní půda Amiesova

Transportní půda Amies je součástí odběrových souprav a slouží k zajištění přežití velmi citlivých bakterií odebraných v biologickém vzorku. Půda obsahuje kalciové, sodné, hořčíkové a fosfátové soli. Součástí je i malé množství agaru, které zajistí polotuhou konzistenci, vhodnou pro transportní půdy. Absorbce toxických látek je zajištěna díky přidavku aktivního uhlí. Obecně platí, že odebraný vzorek musí být do laboratoře dopraven co nejrychleji a materiál nesmí být vystaven přímému slunečnímu záření. [8,25]

5.3.1.2 Krevní agar

Jedná se o nejběžnější půdu v klinické mikrobiologii. Jeho příprava zahrnuje ochlazení agarového základu na 45 – 50°C a přidání 5 – 10% sterilní defibrinované ovčí krve. Promíchaná směs se poté vylévá do Petriho misek a jen výjimečně do zkumavek.

Krevní agar se řadí mezi základní půdy, protože na něm roste naprostá většina mikrobů, kteří jsou z lékařského hlediska důležití. Zároveň umožňuje sledovat hemolytické vlastnosti narostlých kolonií a podle nich daného mikroba diagnostikovat. Krevní agar je tedy i půdou diagnostickou.

Termín hemolýza označuje schopnost mikroba, který roste na krevním agaru, poškozovat buněčnou membránu erytrocytů pod kolonií nebo v jejím blízkém okolí. Poškození červených krvinek (erytrocytů) se projeví jako projasnění, které je buď úplné nebo neúplné. Úplné projasnění krevního agaru v okolí kolonie se nazývá úplná hemolýza. V případě streptokoků se označuje jako β -hemolýza, která je typická pro *Staphylococcus aureus* produkující hemolysin – α -lyzin. Pokud na krevním agaru nedochází k úplnému projasnění, nedošlo k dokonalému rozpadu erytrocytů a hemolýza se označí jako neúplná. Typicky ji vyvolává *Staphylococcus aureus* produkující hemolysin – δ -lyzin. [3]

Pro obecnou kultivaci *S. aureus* se také používají CNA půdy. Jedná se o krevní agar obohacený antibiotiky, která odkloní růst grampozitivních tyčinek. CNA půdy jsou důležité v případech, kdy je nutné vyselektovat růst požadovaných kolonií z velkého počtu bakterií.

5.3.1.3 Mueller – Hinton Agar (M-H agar)

Půda Mueller – Hinton agar se používá k zajišťování citlivosti mikrobů k antibiotikům. Rozdíl mezi touto půdou a krevním agarem je absence peptonu a naopak obsah škrobu. Pepton by znemožnil difuzi antibiotik v médiu. Škrob zajišťuje ochranu před toxickými metabolity bakterií a umožní růst kolonií i z velmi malého inokula.

Mueller – Hinton agar lze obohatit o 7% beraní krev. To umožní stanovení citlivosti k antimikrobiálním látkám u růstově náročných mikrobů. [3]

6 Metodika

6.1 Kultivační průkaz infekčního agens

Kultivace je základním kamenem bakteriologické diagnostiky a jednou z metod přímého průkazu původce onemocnění v biologickém materiálu. Jedná se o laboratorní pomnožení mikroorganismů v ideálních kultivačních podmínkách a prostředí. K pomnožení bakterií dochází po naočkování na bezbuněčné půdy, které obsahují potřebné živiny (bílkoviny, vitamíny, soli). Tyto půdy byly popsány v předchozí kapitole.

Cílem kultivace je prokázání přítomnosti původce onemocnění v odebraném materiálu a především získání čisté kultury. Čistá kultura představuje klony identických buněk, které vznikají z jedné mateřské bakterie. Izolace původce z čisté kultury je nezbytná pro přesnou identifikaci a další charakterizování, jakým je např. určení biochemických vlastností nebo stanovení citlivosti na antibiotika. [23, 25]

6.2 Podmínky kultivace bakterií

Bakterie se množí prostým binárním dělením svých buněk. Znamená to, že se buňka mateřská rozdělí na dvě stejné buňky dceřiné. Dobu, která je potřebná ke zdvojení původní populace popisuje generační čas a celý tento proces označujeme jako růstový cyklus.

Každý mikroorganismus má své vlastní požadavky a nároky na kultivační podmínky, které je nutné pro množení a růst zajistit. [3,23]

6.2.1 Dostatečná vlhkost prostředí

Voda je nezbytná pro metabolismus bakterií. Je základní složkou živé hmoty, a proto ji naprostá většina bakterií vyžaduje v prostředí svého růstu. Pevné půdy mají až 97% obsahu vody vázáno v agaru. Naprostý nedostatek vody a vysušení zmražených bakterií ve vakuu se naopak využívá v případech, kdy je žádoucí dlouhodobé uchování infekčního agens. [3,24]

6.2.2 Optimální teplota

Bakterie jsou schopny se množit pouze v určitém teplotním rozmezí. Pro bakterie patogenní pro člověka je nutné zajistit teplotu simulující prostředí lidského organismu. Optimální teplotou je tedy 35 – 37°C. [3,26]

6.2.3 Optimální pH půdy

Pro většinu bakterií je ideální neutrální pH půd, ve kterých se mají množit. Výborně rostou v rozmezí pH 7,2 – 7,4.

6.2.4 Dostatečné množství živin a růstových faktorů

Veškeré bakterie patogenní pro lidský organismus vyžadují v půdách dostatečný obsah živin. Jako zdroj uhlíku a dusíku slouží organické látky. Nezbytnou součástí kultivačních půd jsou i růstové faktory - krev, sérum nebo kvasničný extrakt. Dále cukry, které představují zdroj energie, vitamíny, soli, pufrý a ionty kovů, které jsou součástí bakteriálních enzymů. Do jednotlivých druhů půd se pak přidávají látky pro tyto půdy specifické. Například selektivní půdy obsahují antibiotika a barviva. [24]

6.2.5 Vhodné plynné prostředí

Mikroorganismy se podle svého vztahu ke kyslíku dělí na aeroby, anaeroby, fakultativní anaeroby a mikroaerofily. Přítomnost kyslíku ke svému růstu vyžadují vždy aerobní mikroby. Opakem jsou mikroby anaerobní, které rostou pouze bez přítomnosti kyslíku, který je pro ně jedovatý. Fakultativní anaeroby rostou jak v prostředí s kyslíkem, tak v prostředí, kde se kyslík nevyskytuje. Posledním typem jsou mikroaerofily, které ke svému přežití vyžadují kyslík, ale v desetkrát nižší hodnotě než je v atmosféře. Podle druhu mikrobu a jejich vztahu ke kyslíku musíme při kultivaci zajistit příslušné plynné prostředí. [3,25]

6.3 Obecná kultivace *Staphylococcus aureus*

Pro záchyt zlatého stafylokoka se používá základní půda krevní agar, který je na Petriho miskách. Pro rozočkování (inokulaci) biologického materiálu na pevnou půdu se používá sterilní bakteriologická klička. Tvoří jí platinový drátek zakončený zahnutím do tvaru oka. Drát je upevněn v držáku.

Očkováním se rozumí přenesení vzorku vyšetřovaného materiálu, ve kterém se předpokládá přítomnost bakterií, na novou pevnou půdu. Je nutné pracovat asepticky, aby nedošlo k sekundární kontaminaci půdy jinými mikroby.

V první řadě je vždy nutné správně označit kultivační půdy, aby nedošlo k záměně vzorků. K označení se používá tužka na sklo nebo lihový fix. Poté se odběrový tampon vyjme z transportní půdy a ve spodní části krevního agaru se krouživým pohybem tampon otře ze všech stran a vytvoří se tzv. inokulum. Rozočkování se provádí sterilní bakteriologickou kličkou. Sterilizace se zajistí protažením platinového drátku plamenem kahanu a vychladnutím. Z celého místa inokulace se vedou očkovací čáry a před každou novou řadou očkovacích čar je nutné použít opět sterilní vychladnutou kličku.

Cílem očkování je naředění vzorku a získání čisté kultury, která je vhodná pro následnou identifikaci a stanovení citlivosti na antibiotika. [24,25]

Naočkovaný krevní agar se zavře sterilním víčkem Petriho misky a vloží do termostatu, kde se teplota pohybuje v ideálních 37°C. Kultivace probíhá 24 hodin.

Po uplynutí 24 hodin se hodnotí a odečítají narostlé kolonie a výsledky se zaznamenávají do počítačového programu laboratoře.

Následuje izolace čisté kultury. Z kolonií narostlých na krevním agaru získáme izolovanou kolonii pomocí sterilní bakteriologické kličky, kterou se opatrně dotkneme jedné vybrané kolonie. Na nové označené plotně krevního agaru stejným způsobem bakteriologickou kličkou vytvoříme očkovací čáry. Čáry vedeme po celé ploše půdy a před každou novou řadou čar kličku opět protáhneme plamenem.

Inkubace je stejná jako po rozočkování vyšetřovaného vzorku - 24 hodin v termostatu vyhřátém na 37°C. Pokud po uplynutí doby inkubace vypadají všechny narostlé kolonie stejně, držíme v rukou čistou kulturu mikroba. [3]

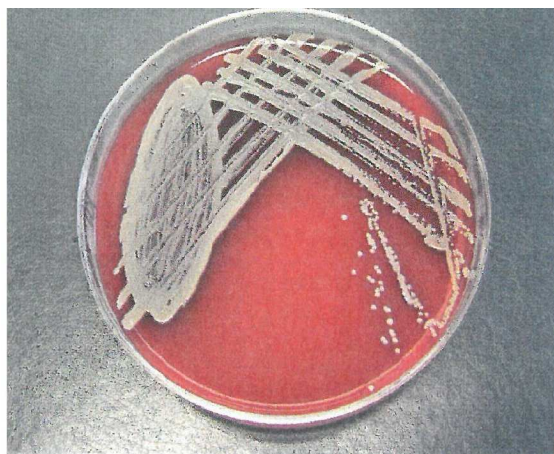
6.4 Hodnocení narostlých kolonií

Kolonie je uzavřená populace milionů bakterií, která vznikla postupným dělením jediné buňky pasivně zanesené na určité místo kultivačního media v průběhu inokulace a izolace klinického vzorku nebo vyšetřovaného mikroba. [24, s. 48]

Při hodnocení bakteriálních kolonií se sledují tyto morfologické znaky:

- **Velikost** – průměr kolonie se zapisuje v milimetrech, velmi drobné se hodnotí jako tečkovité, miliární kolonie.
- **Tvar** – sledujeme, zda má kolonie tvar kulatý, oválný nebo nepravidelně laločnatý.
- **Barva** – zabarvení kolonie je dáno buď druhem nebo kmenem mikroba nebo typem použité kultivační půdy, na které rostou různé mikroby se specifickým zabarvením.
- **Povrch** – sledujeme, zda je hladký, drsný, lesklý nebo matný.
- **Profil** – může být plochý, vypouklý nebo konkávní.
- **Konzistence** – hodnotí se bakteriologickou kličkou. Může být hlenovitá, mazlavá, suchá až drolivá.
- **Vůně či zápach** – kolonie mohou mít nepříjemný hnilobný, plísňový nebo kvasný zápach nebo naopak příjemnou vůni po květinách.
- **Změna půdy v okolí kolonie** – hodnotíme druh vzniklé hemolýzy nebo pronikání pigmentu do krevního agaru. [24]

Obrázek 1 Růst bakterie *Staphylococcus aureus* na krevním agaru



Zdroj: [24]

6.5 Stanovení citlivosti na antibiotika

Zjišťování a měření citlivosti mikrobů k antimikrobiálním látkám patří k velice důležitým vyšetřením prováděným v laboratořích lékařské mikrobiologie. Získané výsledky umožňují ošetřujícímu lékaři stanovit racionální léčbu infekčního onemocnění. Léčba antibiotiky bez předchozího průkazu etiologického agens a určení jeho citlivosti je často bez výsledného klinického efektu a zároveň dochází k plýtvání léčivy a financemi ve zdravotnictví. Dalším následkem může být ohrožení života pacienta a vznik rezistencí mikrobů k antibiotikům. [3,28]

Za účelem stanovení citlivosti k antibiotikům byly vyvinuty kvalitativní a kvantitativní vyšetřovací metody. Liší se spolehlivostí a reprodukovatelností získaných výsledků, použitým materiálem a technikou. [28]

6.5.1 Kvalitativní metody

Kvalitativní metody rozdělují vyšetřované kmeny mikrobů na citlivé, intermediální a rezistentní. K rozdělení dochází na základě růstu testovaného kmene v přítomnosti antibiotik s ohledem na jeho léčebný účinek in vivo (přímo v lidském organismu).

6.5.1.1 Diskový difuzní test

Jedná se o nejpoužívanější test v rutinní praxi. Princip této metody spočívá v použití papírových disků, které jsou impregnovány daným antibiotikem v přesně stanovené koncentraci. Disky jsou komerčně dostupné.

Pro testování citlivosti většiny bakterií se používá pevná půda Mueller – Hinton agar. Vytvoří se suspenze vyšetřovaného kmene z čisté kultury ve fyziologickém roztoku. Síla zákalu (denzita) musí odpovídat standardu 0,5 dle McFarlanda (tj. $1-3 \cdot 10^8$ bakterií/ml). Suspenze se očkuje na pevnou půdu křížovým roztěrem po celé ploše plotny pomocí vatového tamponu nebo se na povrch půdy napipetují přibližně 2 ml suspenze, krouživým pohybem se rozlije po celé ploše plotny a přebytečná tekutina se odsaje. Plotna se musí nechat dobře zaschnout, přibližně 15 minut.

Na zaschlou půdu se pomocí sterilní jehly nebo raznice kladou disky z filtračního papíru nasycené testovaným antibiotikem. Na plotnu se klade vždy maximálně 6 disků uspořádaných do kruhu ve směru hodinových ručiček. Do sestav jsou vybírána taková antibiotika, u kterých se předpokládá, že budou vhodná k léčbě infekčního onemocnění, které vyvolává přítomný mikrob. [25,28]

Tabulka 2

Antibiotika používaná pro testování citlivosti *Staphylococcus aureus*

Antibiotikum	Koncentrace antibiotika v disku
CEFOXITIN (OXACILIN)	30 µg
ERYTROMYCIN	15 µg
CLINDAMYCIN	2 µg
TETRACYKLIN	30 µg
COTRIMOXAZOL	25 µg
GENTAMYCIN	10 µg

Zdroj: [vlastní]

Pozn.: v laboratořích mikrobiologie ve Fakultní nemocnici na Lochotíně se při testování citlivosti na antibiotika používá místo oxacilinu vyhledávací antibiotikum na MRSA kmeny - cefoxitin. Ve výsledcích vydávaných laboratoří se ale zapisuje jako oxacilin.

Půda s disky se nechá kultivovat 18 – 24 hodin v termostatu při teplotě 35°C. Během této doby difunduje – proniká antibiotikum napuštěné v disku do okolního agaru, který byl naočkován testovaným kmenem. Pronikáním antibiotika do okolí se vytváří koncentrační gradient, který zabrání růstu mikroba. Záleží na jeho citlivosti vůči antibiotiku.

Pokud je mikrob vůči danému antibiotiku citlivý, vytvoří se okolo disku tzv. *zóna inhibice*, neboli prostor, v němž byl růst mikroba potlačen a antibiotikum je vhodné k léčbě. Měří se průměr zóny inhibice buď pomocí pravítka nebo šuplery. Naměřená hodnota v mm se porovnává s tzv. referenční zónou (break point), kterou udává výrobce.

Mikrob, který má zónu inhibice stejnou nebo větší, než udává výrobce, je k danému antibiotiku citlivý. V případě, že je zóna inhibice menší, než udává výrobce nebo mikroby rostou přímo až k disku, je mikrob k danému antibiotiku rezistentní. V praxi to znamená, že tato antimikrobiální látka v organismu pacienta růst mikroba nepotlačí a nelze ho použít

k léčbě vzniklého infekčního onemocnění. [3,28]

Tabulka 3
Referenční zóny inhibice pro vybraná antibiotika

Antibiotikum	Referenční zóna inhibice [mm] Break point
CEFOXITIN (OXACILIN)	≥ 22
ERYTROMYCIN	≥ 21
CLINDAMYCIN	≥ 22
TETRACYKLIN	≥ 22
COTRIMOXAZOL	≥ 17
GENTAMYCIN	≥ 18

Zdroj: [vlastní]

Výsledkem tohoto testu je tedy rozhodnutí, zda je mikrob vůči konkrétnímu antibiotiku citlivý nebo rezistentní, což je podstatné pro volbu léčiva. Výjimku tvoří tzv. *inducibilní rezistence*. Při odečítání zóny inhibice, odpovídají milimetry hodnotě, při které je mikrob citlivý. Ovšem vizuálně se zóna na pevné půdě nejeví jako pravidelný kruh (jak je tomu ve fyziologických případech), ale jedna strana je seříznutá a může připomínat písmeno „D“. Takovéto antibiotikum se jeví jako citlivé in vitro (na testovací plotně), ale in vivo (v organismu pacienta) by bylo zcela neúčinné.

Pokud se při vyšetření citlivosti prokáže přítomnost Methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*, pro kterého je typická rezistence vůči oxacilinu, provádí se rozšířená disková citlivost. Postup stanovení rozšířené citlivosti je stejný. Rozdíl je pouze v použitých diskových antibiotikách. Používá se ciprofloxacin, chloramfenikol, tigecyklin, linezolid a rifampicin. Cílem je zjistit, které antibiotikum je vhodné pro léčbu MRSA.

6.5.2 Kvantitativní testy

Po provedení kvalitativního testování citlivosti mikrobů na antibiotika je většinou vhodné stanovit i kvantitativní vyšetření, které ukáže i míru citlivosti bakterie ke konkrétnímu antibiotiku. Umožní tak vybrat nejvhodnější lék a jeho optimální dávkování.

Kvantitativní vyšetření je požadováno hlavně v případech, kdy jen klasické stanovení citlivosti není dostačující. Například při sepsích nebo při selhání léčby založené na kvalitativních testech. Pro zhodnocení míry citlivosti se používají diluční testy, při kterých se stanoví minimální inhibiční koncentrace (MIC). [24,27]

6.5.2.1 Minimální inhibiční koncentrace (MIC)

Diluční test se nejčastěji provádí v mikrotitrační destičce s dvanácti sloupci a osmi řadami jamek. Principem je použití odstupňovaných koncentrací daného antibiotika. Antibiotikum se ředí geometrickou řadou v tekuté půdě Mueller – Hinton. Jamky mikrotitrační destičky se plní bujonem s příslušnou koncentrací antibiotika pomocí automatického dávkovače. Na jedné destičce můžeme současně testovat až 12 druhů antibiotik. Všechny jamky se následně naočkují – inokulují standardním množstvím čisté kultury testovaného kmene. Destička se inkubuje 18 – 24 hodin v termostatu s 37°C.

Součástí každé destičky je i kontrolní jamka, ve které se kontroluje růst testovaného kmene. V této jamce je naočkovaný M-H bujon, který neobsahuje žádné antibiotikum, které by bránilo růstu mikroba. Růst se projevuje zákalem v jamce.

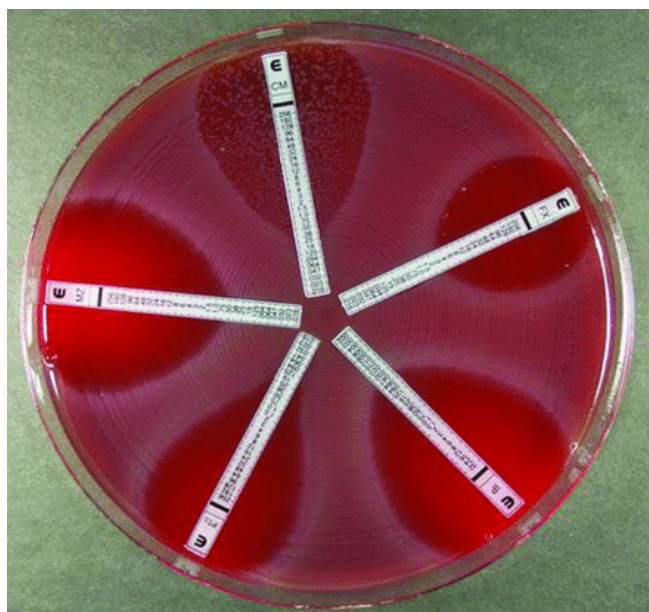
Po inkubaci se hodnotí růst mikroba, dle zákalu půdy. Čiré médium je známkou potlačení růstu mikroba v přítomnosti účinné koncentrace antibiotika. Podstatné je zjištění nejnižší koncentrace testovaného antibiotika, která je schopna růst bakterie potlačit. Nacházíme ji v první jamce bez zákalu. Tato hodnota odpovídá minimální inhibiční koncentraci. MIC se udává mg/l nebo $\mu\text{g/ml}$. Hraniční koncentrace, která rozděluje populaci na citlivou a rezistentní, se nazývá break point. [12,25]

Pro získání účinné koncentrace antibiotika ve tkáních je nutné dosáhnout sérových hladin 2 – 5x vyšších, než je zjištěná minimální inhibiční koncentrace. V případech lokalizované infekce musí být dokonce až 20x vyšší. [24]

6.5.2.2 E-test

Alternativou dilučního testu je tzv. E-test. Jedná se o gradientovou difuzní metodu stanovení minimální inhibiční koncentrace na plotně s M-H agarem. Podstatou tohoto testu jsou komerčně dodávané proužky z filtračního papíru. Proužky jsou kalibrované a napuštěné koncentračním gradientem daného antibiotika. Na agarové plotně je plošně naočkovaná suspenze testovaného kmene a do středu se položí proužek. Antibiotikum začne pronikat – difundovat do agarů. Po uplynutí doby inkubace se v okolí proužku vytvoří inhibiční zóna ve tvaru protáhlé kapky. Kapka je nejširší v horní části proužku, kde je koncentrace nejvyšší a zužuje se v místě s nejnižší koncentrací, která je schopna potlačit růst mikroba. Díky koncentrační stupnici natištěné na proužku se tato hodnota snadno odečte a určí se MIC. Cena E-testu je ovšem dost vysoká, a tak je tato metoda méně dostupná. [12,27]

Obrázek 2 E-test



Zdroj: [30]

7 Prezentace a interpretace získaných výsledků

Tabulka 4

Přehled získaných izolátů *S. aureus* za dané období

10. leden 2015 (sobota)					
číslo	oxacilin	erytromycin	klindamycin	typ rezistence	materiál
1	28C	27C	27C	citlivý	výtěr z nosu
2	30C	28C	29C	citlivý	výtěr z rány
3	27C	25C	25C	citlivý	punktát
4	30C	25C	27C	citlivý	stěr z eroze
5	34C	28C	28C	citlivý	výtěr z nosu
6	29C	28C	28C	citlivý	výtěr z krku
7	30C	29C	30C	citlivý	výtěr z nosu
8	26C	22C	22C	citlivý	venozní katetr centrální
9	30C	27C	28C	citlivý	výtěr z rány
10	28C	6R	25R	iMLS	výtěr z rány
11	32C	28C	26C	citlivý	sputum
12	6R	6R	6R	MRSA cMLS	sputum
10. únor 2015 (úterý)					
číslo	oxacilin	erytromycin	klindamycin	typ rezistence	materiál
13	32C	28C	28C	citlivý	výtěr z nosu
14	32C	32C	32C	citlivý	výtěr z rány
15	12R	6R	6R	MRSA cMLS	výtěr z krku
16	31C	29C	29C	citlivý	výtěr z nosu
17	29C	27C	27C	citlivý	výtěr z nosu
18	28C	27C	27C	citlivý	výtěr z rány
19	30C	28C	28C	citlivý	výtěr z rány
20	29C	28C	28C	citlivý	výtěr z rány
21	6R	6R	6R	MRSA cMLS	stěr z kůže
22	26C	25X	25X	citlivý	moč
23	31C	6R	24R	iMLS	výtěr z rány
24	29C	27C	26C	citlivý	sputum

25	33C	28C	30C	citlivý	výtěr z rány
26	30C	25C	28C	citlivý	výtěr z rány
27	32C	27C	27C	citlivý	oko - spojiv. vak
28	30C	29C	30C	citlivý	pupek stěr
29	12R	6R	6R	MRSA cMLS	krev
30	6R	6R	6R	MRSA cMLS	výtěr z rány
31	29C	28C	27C	citlivý	výtěr z rány
32	28C	27C	28C	citlivý	stěr ze žluč. cest
10. březen 2015 (úterý)					
číslo	oxacilin	erytromycin	klindamycin	typ rezistence	materiál
33	28C	27C	27C	citlivý	výtěr z krku
34	30C	29C	28C	citlivý	výtěr z ucha
35	28C	26C	25C	citlivý	výtěr z nosu
36	28C	27C	27C	citlivý	sputum
37	30C	27C	27C	citlivý	výtěr z rány
38	29C	27C	27C	citlivý	výtěr z rány
39	29C	27C	27C	citlivý	rána(incize)
40	29C	25C	25C	citlivý	výtěr z nosu
41	30C	29C	29C	citlivý	punktát
42	27C	6R	27R	iMLS	nos
43	29C	18Z	27X	eflux	moč
44	32C	29C	29C	citlivý	výtěr z nosu
45	28C	28C	28C	citlivý	výtěr z nosu
46	28C	27C	27C	citlivý	výtěr z rány
47	30C	30C	30C	citlivý	výtěr z nosu
48	30C	30C	30C	citlivý	tracheální aspirát
49	30C	28C	28C	citlivý	výtěr z rány
50	28C	25C	25C	citlivý	výtěr z nosu
51	32C	30C	30C	citlivý	sputum
52	30C	6R	27R	iMLS	sputum
10. duben 2015 (pátek)					
číslo	oxacilin	erytromycin	klindamycin	typ rezistence	materiál
53	25C	22C	22C	citlivý	stěr z rány PDK

54	26C	6R	6R	cMLS	stěr z rány PDK
55	8R	6R	22R	MRSA iMLS	dekubitus sacrum
56	29C	28C	27C	citlivý	dren z břicha
57	31C	26C	28C	citlivý	perif. krev
58	28C	25C	25C	citlivý	perif. krev
59	11R	6R	6R	MRSA cMLS	krev
60	28C	6R	23R	iMLS	výtěr z nosu
61	31C	29C	31C	citlivý	výtěr z nosu
62	28C	28C	28C	citlivý	výtěr z nosu
63	28C	25C	25C	citlivý	výtěr z oka
64	6R	6R	6R	MRSA cMLS	punktát z drenu
65	30C	27C	27C	citlivý	stěr chirurg. rána
66	6R	6R	6R	MRSA cMLS	stěr chirurg. rána
67	27C	25C	26C	citlivý	stolice výtěr z rekta
68	28C	27C	28C	citlivý	stolice výtěr z rekta
69	28C	27C	26C	citlivý	výtěr z rány
70	28C	28C	27C	citlivý	stěr páteř. kanál
71	29C	28C	28C	citlivý	výtěr z rány
72	27C	23C	23C	citlivý	výtěr z rány
73	30C	28C	28C	citlivý	stěr z třísla
74	28C	6R	26R	iMLS	stěr z bérce
75	31C	30C	29C	citlivý	stěr z kůže
76	30C	27C	26C	citlivý	stěr z bérce. vředu DK

10. květen 2015 (neděle)

číslo	oxacilin	erytromycin	klindamycin	typ rezistence	materiál
77	28C	28C	27C	citlivý	stěr z PHK
78	27C	28C	28C	citlivý	výtěr z nosu
79	16R	6Z	6Z	MRSA cMLS	moč
80	30C	28X	28X	citlivý	moč z ledviny
81	30C	25X	25X	citlivý	moč cévka
82	30C	29C	28C	citlivý	výtěr z nosu
83	32C	30C	28C	citlivý	výtěr z krku

84	31C	31C	30C	citlivý	výtěr z rány
10. červen 2015 (středa)					
číslo	oxacilin	erytromycin	klindamycin	typ rezistence	materiál
85	26C	23C	23C	citlivý	stěr z LDK
86	29C	24C	24C	citlivý	výtěr stř. ucho
87	27C	27C	25C	citlivý	výtěr z nosu
88	27C	26C	25C	citlivý	výtěr stř. ucho
89	6R	6R	6R	MRSA cMLS	stěr z PDK
90	28C	23C	24C	citlivý	výtěr z nosu
91	25C	23C	23C	citlivý	výtěr z nosu
92	28C	28C	28C	citlivý	výtěr z rány
93	29C	29C	29C	citlivý	stěr hrud. drenu
94	28C	6R	6R	cMLS	stěr z kůže
95	27C	27C	27C	citlivý	výtěr z nosu
96	27C	26X	26X	citlivý	moč
97	26C	26C	26C	citlivý	stěr z DK
98	30C	30C	30C	citlivý	stolice výtěr z rekta
99	6R	6R	6R	MRSA cMLS	výtěr z rány
100	6R	6R	6R	MRSA cMLS	výtěr z nosu
101	33C	33C	32C	citlivý	výtěr z rány LDK
102	30C	28C	29C	citlivý	výtěr z rány
103	29C	26C	26C	citlivý	výtěr z rána na koleni
104	27C	27C	27C	citlivý	výtěr z rány
105	36C	6R	6R	cMLS	stěr z OR
106	30C	29C	29C	citlivý	stěr bérkový vřed
107	30C	27C	27C	citlivý	výtěr z rány
108	30C	30C	28C	citlivý	výtěr z rány
109	12R	6R	6R	MRSA cMLS	výtěr z rány
10. červenec 2015 (pátek)					
číslo	oxacilin	erytromycin	klindamycin	typ rezistence	materiál
110	30C	27X	26X	citlivý	moč

111	27C	26C	25C	citlivý	tkáň tenké střevo
112	28C	24C	22C	citlivý	výtěr z nosu
113	28C	28C	26C	citlivý	výtěr z rány
114	30C	28C	27C	citlivý	stěr z PDK
10. srpen 2015 (pondělí)					
číslo	oxacilin	erytromycin	klindamycin	typ rezistence	materiál
115	28C	28C	27C	citlivý	výtěr z nosu
116	28C	10R	26R	iMLS	výtěr z rány
117	30C	30C	30C	citlivý	výtěr z nosu
118	30C	30C	28C	citlivý	výtěr z nosu
119	31C	30C	28C	citlivý	výtěr z nosu
120	30C	27C	27C	citlivý	výtěr z nosu
121	30C	6R	25R	iMLS	výtěr z LDK
122	31C	31C	30C	citlivý	výtěr z nosu
123	28C	27C	27C	citlivý	stěr z LHK
124	28C	29C	28C	citlivý	výtěr z nosu
125	29C	6R	26C	eflux	výtěr z nosu
126	28C	28C	28C	citlivý	výtěr z pochvy
127	27C	29C	29C	citlivý	stěr z rány
128	6R	6R	28R	MRSA iMLS	výtěr z krku
129	31C	30C	29C	citlivý	výtěr z nosu
130	31C	29C	28C	citlivý	výtěr z nosu
131	29C	29C	28C	citlivý	výtěr z ucha
132	31C	29C	28C	citlivý	výtěr z nosu
133	30C	29C	29C	citlivý	tracheotomie výtěr
134	31C	28X	27X	citlivý	moč
135	30C	28C	28C	citlivý	výtěr z nosu
136	30C	30C	30C	citlivý	výtěr z rány
137	30C	30C	30C	citlivý	výtěr z rány
138	29C	29C	28C	citlivý	výtěr z krku
139	31C	30C	30C	citlivý	výtěr z nosu
140	32C	30C	30C	citlivý	výtěr z nosu
141	6R	6R	6R	MRSA cMLS	tracheální aspirát

142	6R	6R	6R	MRSA cMLS	trach. aspirát
143	24C	24C	20C	citlivý	sputum
144	30C	29C	28C	citlivý	stěr z dutiny femuru
145	29C	28C	28C	citlivý	stěr z rány dlaň LHK
146	31C	31C	30C	citlivý	stěr z koutku úst
147	30C	28C	28C	citlivý	sputum
148	29C	6R	24R	iMLS	sputum
149	30C	6R	27R	iMLS	sputum
150	28C	29C	29C	citlivý	stěr z palce LHK
151	28C	27C	27C	citlivý	absces
10. září 2015 (čtvrtek)					
číslo	oxacilin	erytromycin	klindamycin	typ rezistence	materiál
152	26C	25C	25C	citlivý	punktát kolena
153	27C	26C	27C	citlivý	výtěr z nosu
154	28C	28C	28C	citlivý	výtěr bércový vřed
155	32C	28C	30C	citlivý	výtěr z nosu
156	30C	6Z	24Z	iMLS	moč
157	36C	6R	6R	cMLS	výtěr z nosu
158	29C	28C	30C	citlivý	výtěr z nosu
159	30C	27C	28C	citlivý	stěr z rány
160	26C	26C	25C	citlivý	krev
161	26C	21C	29C	citlivý	výtěr z nosu
162	27C	27C	27C	citlivý	trachea aspirát
163	28C	27C	27C	citlivý	výtěr z nosu
164	27C	24C	24C	citlivý	výtěr z nosu
165	30C	29C	29C	citlivý	stěr z kůže
166	28C	26C	26C	citlivý	stěr glans penis
167	28C	29X	28X	citlivý	moč
168	27C	27C	26C	citlivý	stěr z rány
169	23C	24C	24C	citlivý	stěr z rány
170	25C	26C	26C	citlivý	stěr z rány
171	24C	23C	23C	citlivý	sputum
172	28C	27X	27X	citlivý	moč
173	23C	26C	26C	citlivý	sputum

174	30C	27C	27C	citlivý	stěr z píštěle L prsu
10. říjen 2015 (sobota)					
číslo	oxacilin	erytromycin	klindamycin	typ rezistence	materiál
175	28C	26C	26C	citlivý	punktát ledviny
176	27C	30C	30C	citlivý	výtěr z nosu
177	30C	28C	29C	citlivý	výtěr z nosu
178	6R	6R	6R	MRSA cMLS	výtěr z rány
179	29C	28C	28C	citlivý	výtěr z nosu
180	6R	6R	6R	MRSA cMLS	výtěr z rány
10. listopad 2015 (úterý)					
číslo	oxacilin	erytromycin	klindamycin	typ rezistence	materiál
181	31C	28C	28C	citlivý	výtěr z nosu
182	29C	25C	25C	citlivý	bronchoalveol. laváž
183	32C	29C	28C	citlivý	stěr PHK
184	30C	28C	28C	citlivý	výtěr z nosu
185	6R	6R	6R	MRSA cMLS	výtěr z rány
186	29C	27C	27C	citlivý	stěr z kůže hýždě
187	29C	27C	27C	citlivý	stěr z kůže hýždě
188	30C	27C	27C	citlivý	výtěr z rány
189	30C	29C	29C	citlivý	punktát lokte
190	6R	6R	6R	MRSA cMLS	sputum
191	6R	6R	6R	MRSA cMLS	sputum
192	29C	28C	28C	citlivý	výtěr z nosu
193	28C	27C	27C	citlivý	výtěr z nosu
194	33C	29C	28C	citlivý	výtěr z ucha
195	29C	27C	26C	citlivý	výtěr z ucha
196	30C	6R	26R	iMLS	stěr larynx
197	30C	29C	30C	citlivý	stěr perianálně
198	29C	28C	25C	citlivý	stěr glans penis
199	29C	6R	24R	iMLS	výtěr z krku
200	6R	6R	6R	MRSA cMLS	výtěr z nosu

201	6R	6R	6R	MRSA cMLS	stěr ze kšice
202	31C	28C	28C	citlivý	stěr z erythemů
203	12R	27C	27C	MRSA	výtěr z nosu
204	28C	29C	28C	citlivý	stěr z kůže DK
205	6R	6R	6R	MRSA cMLS	moč
206	28C	22C	22C	citlivý	sputum
10. prosinec 2015 (čtvrtek)					
číslo	oxacilin	erytromycin	klindamycin	typ rezistence	materiál
207	31C	28C	28C	citlivý	výtěr z nosu
208	6R	6R	6R	MRSA cMLS	výtěr z krku
209	29C	26C	28C	citlivý	výtěr z nosu
210	32C	6R	6R	cMLS	sputum
211	28C	25C	27C	citlivý	krev
212	27C	6R	21R	iMLS	stěr z LDK
213	6R	6R	6R	MRSA cMLS	výtěr z nosu
214	31C	25C	26C	citlivý	výtěr z nosu
215	29C	27C	27C	citlivý	výtěr z nosu
216	26C	28C	28C	citlivý	sputum
217	30C	28X	26X	citlivý	moč
218	33C	29C	30C	citlivý	výtěr z krku
219	29C	25C	24C	citlivý	stěr z prsu
220	27C	27C	27C	citlivý	sputum
221	28C	25C	27C	citlivý	krev
222	30C	28C	28C	citlivý	stěr zevní genitál
223	6R	6R	6R	MRSA cMLS	punktát DB
224	30C	27C	30C	citlivý	píštěl výtěr rectum





Zdroj: [vlastní]

Tabulka 5
Celkový přehled získaných vzorků *S. aureus*

Celkový počet izolátů <i>S. aureus</i> = 224	
Methicilin (oxacilin) rezistentní <i>S. aureus</i> (MRSA) = 29	Komunitní MRSA = 1
	Nosokomiální MRSA = 28
<i>S. aureus</i> rezistentní k erytromycinu = 48	
<i>S. aureus</i> rezistentní ke klindamycinu = 46	
Methicilin (oxacilin) senzitivní <i>S. aureus</i> (MSSA) = 195	cMLS = 5
	iMLS = 14
	eflux = 2

Zdroj: [vlastní]

Tabulka 6
Fenotyp rezistence stafylokoků k antibiotikům skupiny MLS_B a hodnocení podle výsledků diskové metody
 (MLS_B – rezistence k makrolidům, linkosamidům a streptogramidům B)

Fenotyp	Charakter inhibiční zóny	Obrázek
citlivý	kmen kolem disků s ERY a CLI vytváří inhibiční zóny shodné, nebo o větším průměru než je limit pro citlivé kmeny	
cMLS (konstitutivní rezistence)	kmen kolem disků s ERY a CLI nevytváří IZ žádné, nebo o menším průměru než je limit pro citlivé kmeny	
iMLS (indukovaná rezistence)	kmen vytváří deformovanou IZ (D zónu) kolem disku s CLI v oblasti, sousedící s diskem s ERY, kolem nějž nevytváří IZ žádné, nebo o menším průměru než je limit pro citlivé kmeny	
M (eflux)	kmen kolem disku s ERY vytváří IZ menší než je limit pro citlivé kmeny, IZ kolem disku s CLI není deformována a má průměr stejný nebo větší než je limit pro citlivé kmeny	

Zdroj [29]

7.1 Hodnocení a srovnání získaných výsledků s celonárodním průměrem

Tabulka 7

Slovní a číselné vyjádření úrovně antibiotické rezistence

Úroveň antibiotické rezistence	Počet rezistentních kmenů
Vzácná	< 0,1 %
Velmi nízká	0,1 – 1 %
Nízká	> 1 – 10 %
Střední	> 10 – 20 %
Vysoká	> 20 – 50 %
Velmi vysoká	> 50 – 70 %
Extrémně vysoká	> 70 %

Zdroj: [14]

Tabulka 8

Rezistence v České republice

MSSA – <i>Staphylococcus aureus</i> , citlivý k oxacilinu/methicilinu	
Rezistence v ČR	K oxacilinu (MRSA) nebo klindamycinu: střední
MRSA - <i>Staphylococcus aureus</i> , rezistentní k oxacilinu/methicilinu	
Rezistence v ČR	Ke klindamycinu: u komunitních MRSA nízká , u nemocničních MRSA extrémně vysoká

Zdroj: [14]

Slovní hodnocení:

V souboru celkem 224 izolátů *S. aureus* bylo 13 % izolátů rezistentních k oxacilinu (MRSA). Z tohoto počtu tvořila 3 % komunitních MRSA a 97 % nosokomiálních MRSA.

V souboru celkem 224 izolátů *S. aureus* bylo 21 % rezistentních k erytromycinu a 21 % rezistentních ke klindamycinu.

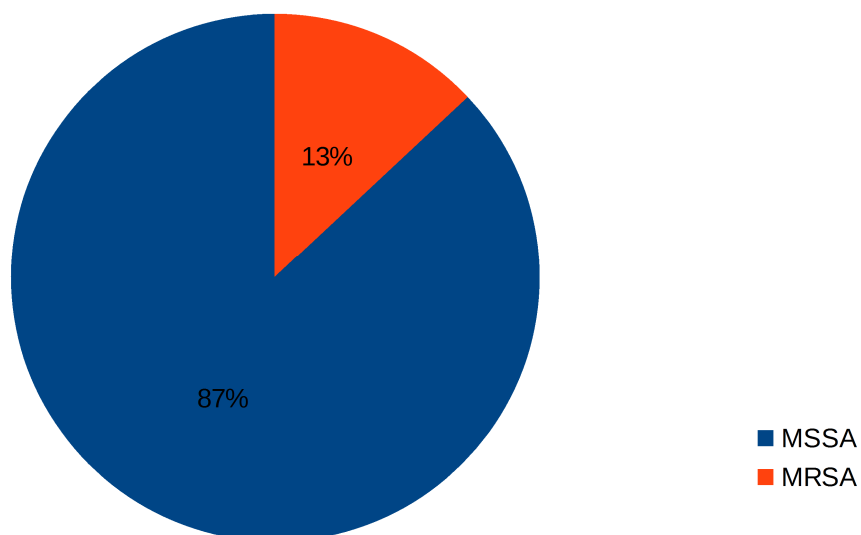
Celonárodní průměr v ČR udává, že rezistence k oxacilinu (MRSA) je střední, to je > 10 – 20 %. Zastoupení methicilin rezistentních izolátů ve FN Plzeň je tedy, se zjištěnými 13-ti procenty, na úrovni celonárodního průměru zjištěného u izolátů způsobujících invazivní infekce.

Rezistence ke klindamycinu dle celonárodního průměru odpovídá střední úrovni bakteriální rezistence, to je > 10 – 20 %. Náš výsledek 21% odpovídá již vysoké úrovni rezistence, a tak je na tom FN Plzeň ve srovnání s uváděným celonárodním průměrem o něco málo hůře.

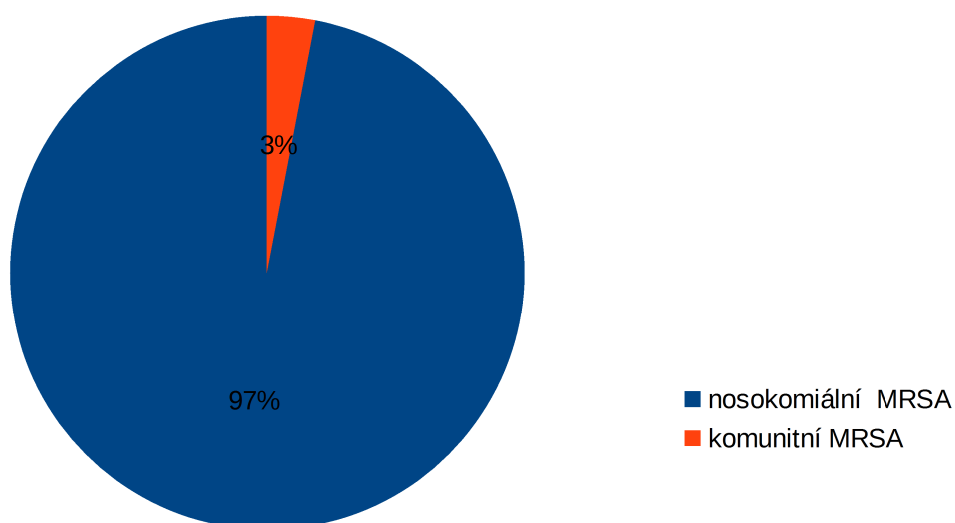
Z celkového počtu izolátů MSSA byla 3 % cMLS, 7 % iMLS a 1 % tvořil eflux.
(viz tabulka 6)

Grafy

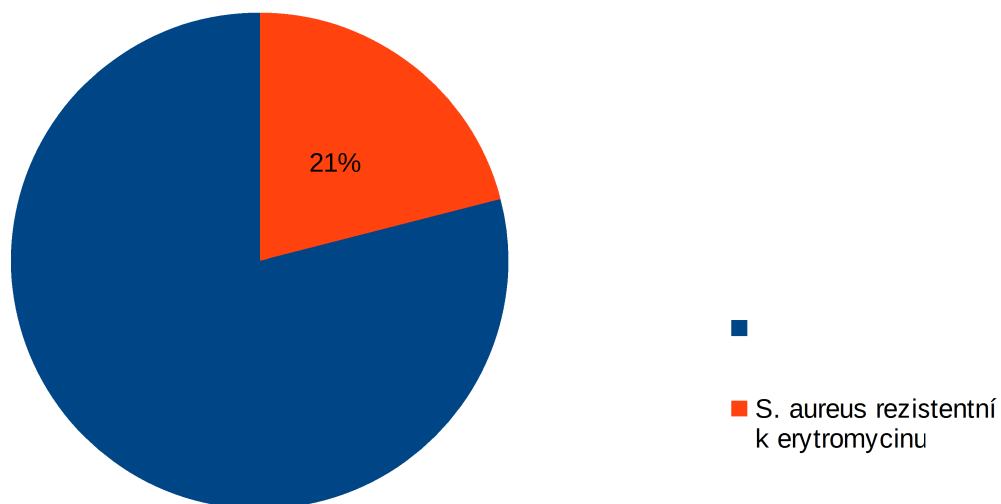
Graf 1 Poměrné zastoupení počtu methicilin rezistentních *S. aureus* (MRSA) a methicilin senzitivních *S. aureus* v celkovém počtu izolátů zlatého stafylokoka



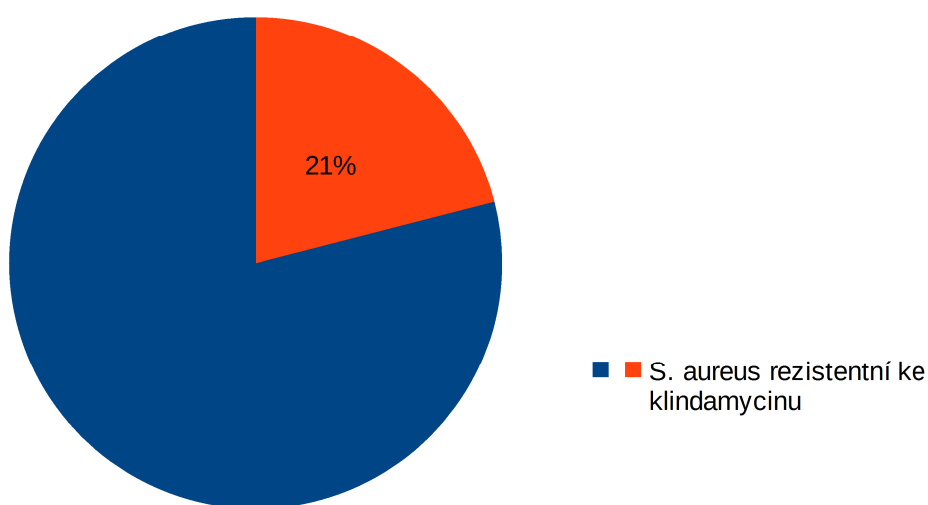
Graf 2 Procentuální zastoupení komunitních a nosokomiálních MRSA z celkového počtu methicilin rezistentních *S. aureus*



Graf 3 Poměrné zastoupení *S. aureus* rezistentních k erytromycinu z celkového počtu izolátů zlatého stafylokoka

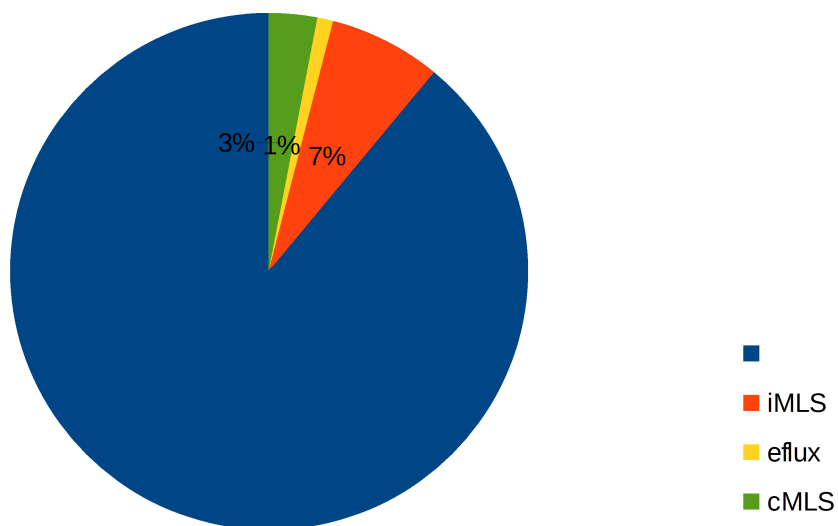


Graf 4 Poměrné zastoupení *S. aureus* rezistentních ke klindamycinu z celkového počtu izolátů zlatého stafylokoka



Graf 5 Poměrné zastoupení konstitutivní rezistence (cMLS), indukované rezistence (iMLS) a efluxu z celkového počtu methicilin senzitivních *S. aureus* (MSSA)

(viz tabulka 6)



8 Diskuse

Na začátku své práce jsem si určila cíl, kterého jsem chtěla v průběhu tvorby práce dosáhnout. Stanovila jsem tři hypotézy a mým úkolem bylo ověřit jejich platnost či neplatnost v praxi a získané výsledky porovnat s literaturou.

Podstatou sepsání teoretické části bylo získání informací o problematice antibiotik a bakteriální rezistenci. Během tvorby jednotlivých kapitol jsem využívala velký počet učebnic a publikací o mikrobiologii a infekčním lékařství. Díky tomu jsem se dozvěděla mnoho o mechanismu účinku antibiotik, nežádoucích účincích a dalších tématech, která jistě využiji v každodenním životě.

Na základě nabytých znalostí o antibiotických střediscích a bakteriální rezistenci jsem byla schopna sestavit možnosti prevence a předcházení vzniku bakteriální rezistence vůči antibiotikům. A tak jsem splnila svůj cíl, porozumět tématu, které jsem si zvolila. Zároveň jsem alespoň touto cestou poukázala na globální problém narůstající rezistence bakterií.

Mou první hypotézu („Infekce MRSA se nejčastěji vyskytují v nemocničních zařízeních“) jsem stanovila po rozhovoru s mou sestrou, která pracuje jako fyzioterapeut, a tak je přímo v kontaktu s hospitalizovanými pacienty, kteří často při pobytu v nemocnicích získají infekce způsobené rodem *S. aureus*, který je rezistentní vůči oxacilinu a někdy i vůči dalším antibiotikům. U těchto pacientů je pak velice složité nalézt účinnou léčbu a zabránit opakovaným návratům infekce.

První hypotéza se potvrdila výsledky získanými z informačního systému Fakultní nemocnice Plzeň. Z celkového počtu 29-ti prokázaných methicilin rezistentních *Staphylococcus aureus* byl pouze jeden komunitní a ostatních 28 případů tvořily nosokomiální, nemocniční MRSA.

Nosokomiální MRSA je rezistentní nejen k oxacilinu, ale také k erytromycinu a klindamycinu. Komunitní MRSA se vyznačuje rezistencí pouze k oxacilinu a k dalším dvěma zmiňovaným antibiotikům je citlivý. Jeho léčba je z tohoto důvodu snadnější.

I přes veškerá hygienická opatření, která musí nemocniční personál dodržovat, jsou právě zaměstnanci pečující o přijaté pacienty nejčastějším zdrojem přenosu a šíření infekce MRSA. Nejrizikovější skupinou ohroženou touto infekcí jsou pacienti po chirurgických zákrocích.

Druhá stanovená hypotéza („Výskyt MRSA ve FN Plzeň odpovídá celonárodnímu průměru“) se také dle získaných výsledků potvrdila.

Z celkového počtu 224 izolátů *S. aureus* bylo 13 % izolátů rezistentních k oxacilinu (MRSA). V literatuře je jako celonárodní průměr ČR uváděna střední úroveň rezistence, která odpovídá > 10 – 20 %. Na stránkách European center for disease prevention and control se dokonce můžeme dočíst, že úroveň rezistence v České republice od roku 2014 odpovídá právě 13-ti procentům.

Zastoupení methicilin rezistentních izolátů ve FN je tedy na úrovni celonárodního průměru zjištěného u izolátů způsobujících invazivní infekce. V našem souboru byly zahrnuty i izoláty kolonizující horní cesty dýchací, u kterých lze předpokládat vyšší úroveň rezistence.

FN Plzeň je největší a nejvýznamnější poskytovatel zdravotní péče v Plzeňském kraji. Jsou zde zastoupena oddělení, kde lze předpokládat zvýšený výskyt MRSA a kde jsou prováděny pravidelně screeniny pro cílený záchyt MRSA. Tato oddělení jsou například hematatoonkologie, jednotky intenzivní péče, včetně dlouhodobé intenzivní péče a další. Výsledky těchto screeningů byly v testovaném souboru zahrnuty.

Vzhledem k těmto skutečnostem je úroveň rezistence, která odpovídá celonárodnímu průměru, pozitivním výsledkem a potvrzením mé hypotézy.

V případě poslední hypotézy („Výskyt rezistencí ke klindamycinu ve FN Plzeň odpovídá celonárodnímu průměru“) musím konstatovat, že se mé výsledky z Fakultní nemocnice se závěry uváděnými v použité literatuře úplně neshodují.

Rezistence ke klindamycinu uváděná v celonárodním průměru je $> 10 - 20 \%$, tedy střední, zatímco výsledky získané ve FN Plzeň za rok 2015 tvoří vysokou úroveň rezistence ($> 20 - 50 \%$). Ovšem hodnota 21% kmenů rezistentních ke klindamycinu ve FN Plzeň přesahuje udávanou střední úroveň pouze o 1%. Můžeme tedy říct, že v podstatě opět odpovídá celonárodnímu průměru.

Extrémně vysoká úroveň rezistence ke klindamycinu ($> 70 \%$), se dle literatury v České republice průměrně vyskytuje pouze u nosokomiálního Methicilin rezistentního *S. aureus*. To se naštěstí v roce 2015 v Plzeňské Fakultní nemocnici neprokázalo.

Závěr

Díky zpracování bakalářské práce na téma „ATB rezistence, význam v současné medicíně a možnosti prevence“, jsem měla možnost se podrobně seznámit s mikrobiologickou laboratoří Fakultní nemocnice v Plzni a s metodami, které se používají pro záchyt zlatého stafylokoka, který se stal hlavním tématem praktické části mé práce.

Získala jsem větší povědomí o riziku bakteriální rezistence a o tom, že tento problém se rozšířil do globálních rozměrů. Dennodenně se každý z nás setkává s případy, které podporují a prohlubují vznik rezistence bakterií k antibiotikům.

Lékaři často bez většího rozmyslu předepisují svým pacientům širokospektrá antibiotika na rozmanité obtíže. Samozřejmě, nastanou případy, kdy s ohledem na akutní kritický stav pacienta není na diagnostiku čas. Pak jsou širokospektrá antibiotika jedinou správnou volbou. Ovšem těchto případů není tolik, především ne v ordinacích praktických lékařů.

Správný postup, jakým je nejprve identifikace mikroba, který stojí za vznikem onemocnění a následné určení citlivosti k antibiotikům a volba účinné antimikrobní terapie, se dnes moc nedodrжуje. Šetří se čas a čas jsou peníze!

Bohužel výsledek tohoto počínání je pravým opakem. Pacient, kterému špatně zvolená antibiotika nepomohla, je nucen se ke svému lékaři vrátit a lékař zvolí léčbu jinou. Prodlužuje se doba léčby a spotřebovává se více léčiv – více financí.

Tímto můžeme poukázat i na společenský a ekonomický význam zdraví a nemoci. Finanční prostředky spotřebované na diagnózu původce onemocnění a čas potřebný pro tento proces jsou v podstatě nepřímou investicí do tvorby bohatství státu. Nemocný člověk nemůže docházet do zaměstnání, stát přichází o pracovní sílu a musí vynaložit finanční prostředky na zabezpečení v nemoci.

Pro mne, jako zdravotnického pracovníka, je samozřejmě více než ekonomický dopad podstatný dopad pro samotné pacienty – lidi. Stoupající rezistence vede ke snižování možností volby léčiv a v kritických případech ohrožuje pacienty na životě.

Je tedy na nás, abychom si uvědomili následky nadměrného užívání antibiotik a zapojili vlastní rozum při užívání předepsaných léčiv.

V časopise Forbes jsem četla zajímavý článek o Václavu Smilovi, který je označován za nejinspirativnějšího Čecha současnosti. Vystudoval Přírodovědeckou fakultu Univerzity Karlovy v Praze. Již téměř půl století žije v USA a zajímá se o nejružnější oblasti od energetiky po globální problémy a životní prostředí a dává je do vzájemných souvislostí. O jeho rady stojí i takové osobnosti jako Bill Gates nebo tvůrce facebooku Mark Zuckerberg. Ráda bych ho na závěr své práce citovala.

„Jestli mám v něčem o lidstvo strach, neřešil bych funkce nového iPhonu, ale spíš rezistenci bakterií. Už teď je na světě hodně bakterií, které jsou kompletně rezistentní na všechny možné druhy antibiotik, protože antibiotika užíváme příliš. Ve 40. letech jsme tenhle boj vyhráli, ale teď se blížíme do bodu, kdy by tuhle výhodu mohlo lidstvo zase ztratit. Jestli s tím něco neuděláme, budeme mít velký problém. Místo toho teď řešíme mobily a internet.“ [31, s. 88]

Seznam použité literatury

1. *Antibiotikum* – Wikipedie [online]. [cit. 2016-03-06]. Dostupné z: <<https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Antibiotikum&redirect=no>>
2. LOCHMANN, Otto. *Základy antimikrobní terapie*. Vyd. 2. Praha: Triton, 1999, 127 s. ISBN 80-7254-005-x.
3. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie - vyšetřovací metody*. Brno: Neptun, 2010, 495 s. ISBN 978-80-86850-04-7.
4. PŘÍBORSKÝ, Jan. *Peniciliny: farmakologie a klinická farmakologie*. Praha: Maxdorf, 2004, 105 s. ISBN 80-7345-026-7.
5. LOCHMANNOVÁ, Jindra. *Praktické využití antibiotik ve vnitřním lékařství*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2008, 51 s. ISBN 978-80-246-1550-9.
6. LOCHMANN, Otto. *Antimikrobní terapie v praxi*. Vyd. 1. Praha: Triton, 2006, 204 s. ISBN 80-7254-826-3.
7. LOUČNÁ, Anna. *Antibiotika* [online]. Publikováno 06.2007 [cit. 2007-06]
Dostupné z: <http://pharmanews.cz/antibiotika/2007_06/site>
8. BENEŠ, Jiří. *Infekční lékařství*. 1. vyd. Praha: Galén, 2009, xxv, 651 s. ISBN 978-80-7262-644-1.
9. PŘÍBORSKÝ, Jan. *Makrolidy: farmakologie a klinická farmakologie*. Praha: Maxdorf, 2001, 106 s. ISBN 80-85912-53-8.
10. SCHINDLER, Jiří. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Grada, 2014, 215 s., xxiv s. obr. příl. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-4771-2.
11. KRAMÁŘ, Radim. *Lékařská mikrobiologie*. 1. vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zdravotně sociální fakulta, 2007, 72 s. ISBN 978-80-7394-021-8.
12. BEDNÁŘ, Marek. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Vyd. 1. Praha: Marvil, 1996, 558 s. ISBN 80-238-0297-6.
13. *Antibiotika - Wikiskripta* [online]. Publikováno: 16.1 2016 [cit. 2016-01-16] ISSN 1804-6517. Dostupné z: <<http://www.wikiskripta.eu/index.php/Antibiotika#Rezistence>>
14. JINDRÁK, Vlastimil, Dana HEDLOVÁ a Pavla URBÁŠKOVÁ. *Antibiotická politika a prevence infekcí v nemocnici*. 1. vyd. Praha: Mladá fronta, 2014, 709 s. Aeskulap. ISBN 978-80-204-2815-8.
15. JINDRÁK, Vlastimil. *Antibiotická politika v České republice* [online]. Publikováno 11. 10. 2013. [cit. 2013-10-11]. Dostupné z: <<http://zdravi.e15.cz/clanek/postgradualni-medicina/antibioticka-politika-v-ceske-republice-472463>>
16. ŠTURMA, Jan. *Antibiotická střediska* [online]. Publikováno 7. 11. 2010. [cit. 2010-11-07]. Dostupné z: <<http://www.szu.cz/antibioticka-strediska>>
17. *Antimicrobial resistance* [online]. Dostupné z: <<http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/antimicrobial-resistance/antimicrobial-resistance>>
18. URBÁŠKOVÁ Pavla. *Doporučený postup pro kontrolu výskytu kmenů Staphylococcus aureus rezistentních k oxacilinu (MRSA) a s jinou nebezpečnou antibiotickou rezistencí ve zdravotnických zařízeních* [online]. Publikováno 5.4. 2011. [cit. 2011-04-05]. Dostupné z:

<<http://www.szu.cz/lecebne-doporucene-postupy>>

19. *Národní program antibiotické politiky* [online]. Dostupné z:

<http://www.nemocnicepribram.cz/pdf/mikrobio/NAPAP_VR.pdf>

20. KOLÁŘ, Milan. *Antibiotická léčba nozokomiálních infekcí*. Vyd. 1. Praha: Triton, 2000, 181 s. Levou zadní. ISBN 80-7254-151-x.

21. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003, xxii, 495 s. ISBN 80-902896-6-5.

22. KLABAN, Vladimír. *Ilustrovaný mikrobiologický slovník*. 1. české vyd. Praha: Galén, 2005, xv, 654 s. ISBN 80-7262-341-9.

23. MELTER, Oto a Annika MALMGREN. *Principy a praktika lékařské mikrobiologie*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2014, 139 s. ISBN 978-80-246-2414-3.

24. KOUKALOVÁ, Dagmar. *Praktická cvičení z lékařské mikrobiologie I*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého, 2005. ISBN 80-244-0980-1.

25. RYŠKOVÁ, Olga. *Praktická cvičení a semináře z lékařské mikrobiologie: pro studující všeobecného a zubního lékařství*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2010. ISBN 978-80-246-1834-0.

26. HAMPLOVÁ, Lidmila. *Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie, hygiena pro bakalářské studium a všechny typy zdravotnických škol*. 1. vydání. V Praze: Stanislav Juhaňák - Triton, 2015. ISBN 978-80-7387-934-1.

27. JULÁK, Jaroslav. *Praktická cvičení a semináře z lékařské mikrobiologie*. 2. vyd. Praha: Karolinum, 2009. ISBN 978-80-246-1141-9.

28. JÍLEK, Petr. *Úvod do mikrobiologických vyšetřovacích metod ve zdravotnictví*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2002. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN 80-246-0459-0.

29. URBÁŠKOVÁ Pavla. *Stafylokoky – průkaz indukované rezistence ke klindamycinu* [online]. Publikováno 8. 4. 2007 [cit. 2007-04-08]. Dostupné z: <<http://www.szu.cz/stafylokoky-indukovana-rezistence-ke-klindamycinu?highlightWords=cMLS>>

30. American society for microbiology. *Antianaerobic antimicrobials: Spectrum and susceptibility testing* [online]. Publikováno 6. 2013. Dostupné z <<http://cmr.asm.org/content/26/3/526/F6.expansion.html>>

31. KALOUŠ, Pavel. Svět podle Smila. *Forbes*. Leden 2016, 88.

Seznam tabulek

Tabulka 1 Rozdělení antibiotik podle mechanismu účinku

Tabulka 2 Antibiotika používaná pro testování citlivosti *Staphylococcus aureus*

Tabulka 3 Referenční zóny inhibice pro vybraná antibiotika

Tabulka 4 Přehled získaných izolátů *S. aureus* za dané období

Tabulka 5 Celkový přehled získaných vzorků *S. aureus*

Tabulka 6 Fenotyp rezistence stafylokoků k antibiotikům skupiny MLS_B a hodnocení podle výsledků diskové metody

Tabulka 7 Slovní a číselné vyjádření úrovně antibiotické rezistence

Tabulka 8 Rezistence v České republice

Seznam grafů

Graf 1 Poměrné zastoupení počtu methicilin rezistentních *S. aureus* (MRSA) a methicilin senzitivních *S. aureus* v celkovém počtu izolátů zlatého stafylokoka

Graf 2 Procentuální zastoupení komunitních a nosokomiálních MRSA z celkového počtu methicilin rezistentních *S. aureus*

Graf 3 Poměrné zastoupení *S. aureus* rezistentních k erytromycinu z celkového počtu izolátů zlatého stafylokoka

Graf 4 Poměrné zastoupení *S. aureus* rezistentních ke klindamycinu z celkového počtu izolátů zlatého stafylokoka

Graf 5 Poměrné zastoupení konstitutivní rezistence (cMLS), indukované rezistence (iMLS) a efluxu z celkového počtu methicilin senzitivních *S. aureus* (MSSA)

Seznam obrázků

Obrázky v textu

Obrázek 1 Růst bakterie *Staphylococcus aureus* na krevním agaru

Obrázek 2 E-test

Obrázky v přílohách

Obrázek 1 Izolát citlivý ke všem testovaným antibiotikům v základní sadě

Obrázek 2 Komunitní MRSA – malá zóna u cefoxitinu (=ATB používané k detekci MRSA)

Obrázek 3 Nosokomiální MRSA – rezistence k cefoxitinu, erytromycinu a klindamycinu

Obrázek 4 Indukovaná citlivost (fenotyp iMLS) u citlivého kmene *S. aureus*

Seznam použitých zkratek

ATB	antibiotika
FN	Fakultní nemocnice
MRSA	<i>Methicilin rezistentní Staphylococcus aureus</i>
MSSA	<i>Methicilin senzitivní Staphylococcus aureus</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
OXA	oxacilin
ERY	erytromycin
CLI	klindamycin
PBP	penicillin binding protein
G+	grampozitivní
G-	gramnegativní
AS	antibiotická střediska
WHO	World Health organization
ČLS JEP	Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně
M-H agar	Mueller – Hinton agar
MIC	minimální inhibiční koncentrace
IZ	inhibiční zóna
PDK	pravá dolní končetina
Tzv.	takzvaný
Např.	například
ČR	Česká republika

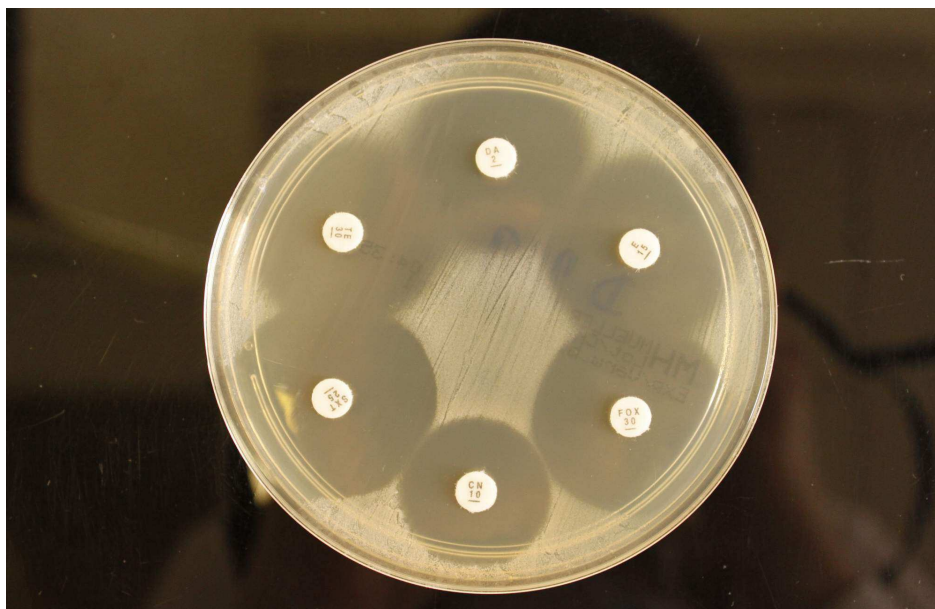
Seznam příloh

Příloha 1 Fotografie získané v mikrobiologické laboratoři FN Plzeň

Příloha 1

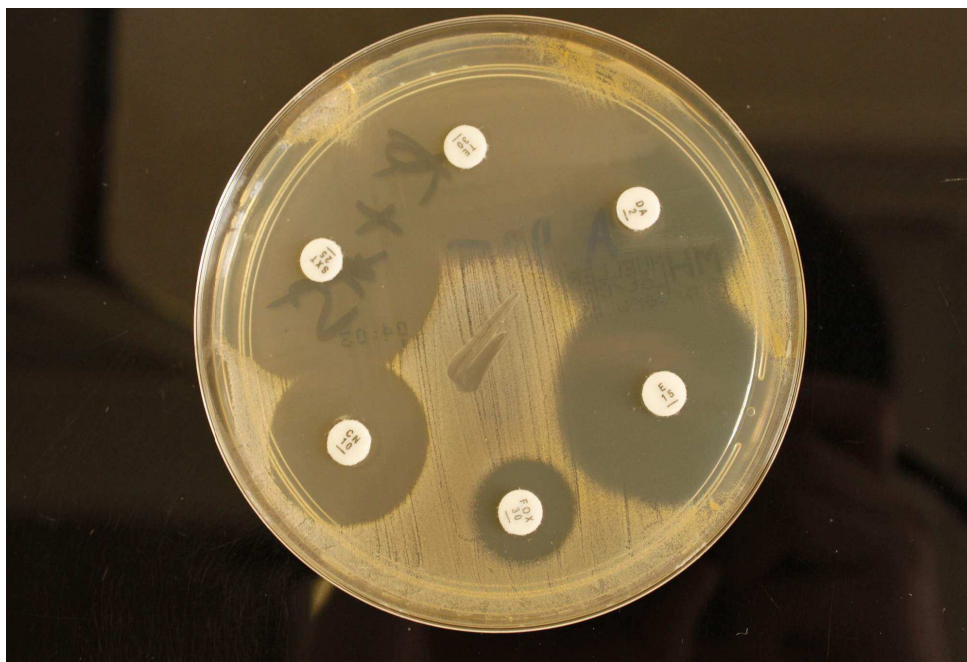
Fotografie získané v mikrobiologické laboratoři FN Plzeň

Obrázek 1 Izolát citlivý ke všem testovaným antibiotikům v základní sadě



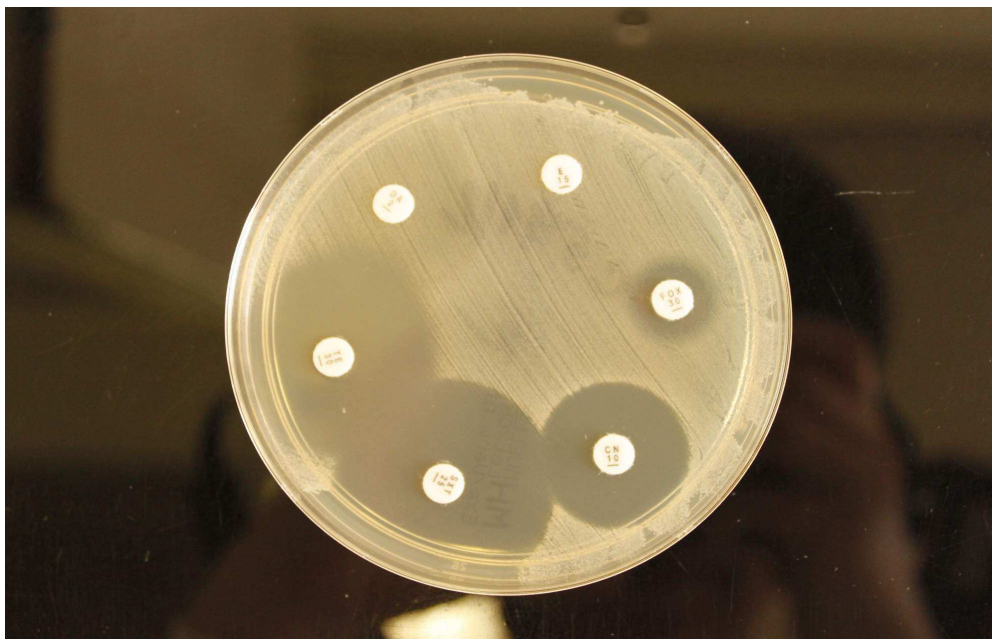
Zdroj: vlastní fotografie

Obrázek 2 Komunitní MRSA – malá zóna u cefoxitinu (=ATB používané k detekci MRSA)



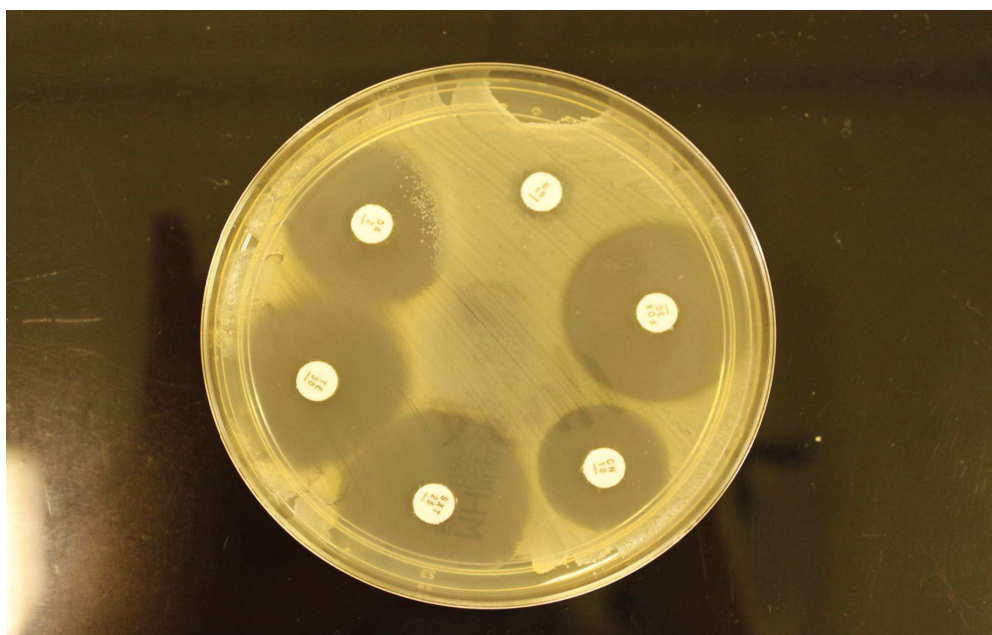
Zdroj: vlastní fotografie

Obrázek 3 Nosokomiální MRSA – rezistence k cefoxitinu, erytromycinu a klindamycinu



Zdroj: vlastní fotografie

Obrázek 4 Indukovaná citlivost (fenotyp iMLS) u citlivého kmene *S. aureus*



Zdroj: vlastní fotografie

Zkratky na antibiotických discích

FOX – cefoxitin

E – erytromycin

DA – klindamycin (dalacin)

TE – tetracyklin

SXT – kotrimoxazol

CN - gentamycin